

**Autor: Roberto Enrique Stetson**



**Universidad de Buenos Aires  
Facultad de Farmacia y Bioquímica**

**Universidad Nacional de Misiones  
Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales**

**Ministerio de Salud Pública  
Provincia de Misiones**

**Acción Molusquicida de *Phytolacca dioica* L. para el control de  
*Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835) Hospedador del  
*Schistosoma mansoni* Sambon, 1907.**

**Autor: Roberto Enrique STETSON**

***Directora Prof. Dra. Marta Esther YAJÍA***

***Co Director: Dr. Ing. Qco. José Luis HERRERA***

***Consejero de Estudio: Dr. Alberto Ángel GURNI***

**Año: 2015**

Autor: Roberto Enrique Stetson

*“Un científico debe tomarse la libertad de plantear cualquier cuestión, de dudar de cualquier afirmación, de corregir errores”*

Robert Oppenheimer (1904-1967) Físico estadounidense.

Autor: Roberto Enrique Stetson

### **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer en primer lugar a Dios creador de todo lo visible e invisible y especialmente a mi esposa la Profesora Rossana Aguirre de Stetson, por la vital colaboración como auxiliar de laboratorio y como revisora del trabajo de tesis por su valioso y constante apoyo moral y económico.

A mi hijo Ing. Fernando Enrique Stetson, por su constante colaboración y apoyo en el área de informática y estadística.

A mis hijos Sofía, Jacqueline y Andrés por su apoyo moral e inclusive económico.

A mi Directora de Tesis Dra. Marta Esther Yajía por haber confiado en mi proyecto y por su apoyo a lo largo del desarrollo del presente trabajo.

A mi Codirector de Tesis Ing. Dr. Luis Herrera y Consejero de Estudio Dr. Alberto Ángel GURNI por sus oportunas correcciones y constante apoyo.

## **PRESENTACIONES Y PUBLICACIONES DE LOS RESULTADOS DE LA TESIS EN EVENTOS.**

Los resultados parciales de la presente tesis fueron presentados y publicados en los libros de resúmenes de los siguientes eventos:

Participación como autor y expositor del trabajo “*Phytolacca dioica* como molusquicida para el control de la Esquistosomiasis” en el XIII Simposio Internacional Sobre Control Epidemiológico de Enfermedades Transmitidas por Vectores y 1° Encuentro Nacional Sobre Enfermedades Olvidadas, realizada en la ciudad de Autónoma de Buenos Aires, Argentina, los días 28 y 29 de noviembre de 2010.

Stetson R .E., “*Phytolacca dioica* L como molusquicida para el control de la Esquistosomiasis”. Lib. de Res. del XIII Simposio Internacional Sobre Control Epidemiológico de Enfermedades Transmitidas por Vectores y 1° Encuentro Nacional Sobre Enfermedades Olvidadas, realizada en la ciudad de Autónoma de Buenos Aires, Argentina, los días 28 y 29 de noviembre de 2010

Participación como autor y expositor del trabajo “Acción Molusquicida de *Phytolacca dioica* L. sobre *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835) (Gasteropoda, Planorbidae)”, en el 1er. Congreso Argentino de Malacología, que se realizó en la Ciudad de La Plata los días 18 al 20 de septiembre de 2013.

Stetson R .E., “Acción Molusquicida de *Phytolacca dioica* L. sobre *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835) (Gasteropoda, Planorbidae)”, Lib de Res. del 1er. Congreso Argentino de Malacología, que se realizó en la Ciudad de La Plata los días 18 al 20 de septiembre de 2013.

Participación como autor y expositor del trabajo "Acción Molusquicida de las decocciones de *Phytolacca dioica* L. sobre *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835) hospedador del *Schistosoma Mansoni* Sambon, 1907"" en el XVI Simposio Internacional sobre Enfermedades Desatendidas, que se realizará el 24 y 25 de agosto de 2015, en el Aula Magna de la Academia de Medicina, ciudad de Buenos Aires.

Stetson R .E "Acción Molusquicida de las decocciones de *Phytolacca dioica* L. sobre *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835) hospedador del

Autor: Roberto Enrique Stetson

Schistosoma Mansoni Sambon, 1907" Lib de Res. del XVI Simposio Internacional sobre Enfermedades Desatendidas, que se realizará el 24 y 25 de agosto de 2015, en el Aula Magna de la Academia de Medicina, ciudad de Buenos Aires.

La presente tesis constituye una parte de un Proyecto de Extensión de la Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales de la UNaM, del cual soy director denominado "Molusquicidas de Origen Vegetal con Especies Nativas para la Prevención de la Esquistosomiasis", aprobado por Resolución N° CD N° 051/2010 Desde el 15 de abril del año 2010 y continua.

.

## RESUMEN

Los moluscos planorbideos, *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835), *B. estraminea* (Dunker, 1848) y *B. glabrata* (Say 1818) son los principales transmisores de la esquistosomiasis mansónica en América del Sur.

En la Argentina no se han registrado casos autóctonos de esquistosomiasis, pero la Provincia de Misiones presenta la mayor parte de su territorio limitando con Brasil, en donde esta parasitosis se encuentra en franca expansión existiendo ya focos endémicos en los Estados de Paraná, Santa Catarina y Río Grande do Sul, limítrofes con la Región Mesopotámica de nuestro país.

Dicha región y otras tropicales de nuestro país, no sólo tienen el clima favorable para la transmisión de la esquistosomiasis, sino también las condiciones socio-económicas de la región pueden favorecer la propagación de la enfermedad.

La enfermedad se puede controlar por métodos quimioterapéuticos pero presentan inconvenientes tales como elevados costos y no evita la reinfección.

La Organización Mundial de la Salud ha priorizado el empleo de productos naturales molusquicidas para el control de la esquistosomiasis debido a su bajo costo y rápida biodegradabilidad.

Lemma, A. 1970 publicó un trabajo sobre las propiedades molusquicidas de *Phytolacca dodecandra* L'Herit con resultados prometedores; según este trabajo las distintas partes secas y molidas de *P. dodecandra* presentaban propiedades molusquicidas sobre varios caracoles entre ellos *Biomphalaria pfeifferi ruppellii* (Dunker).

En la Argentina crece la especie *Phytolacca dioica* L y no se conocen trabajos sobre su efecto molusquicida sobre las especies de *Biomphalaria* nativas de Sudamérica, razón por la cual se decidió realizar estudios que demuestren si existe dicha actividad, teniendo en cuenta que *B. tenagophila* es hospedero intermediario de la Esquistosomiasis mansónica en América del Sur, e integrante de la fauna malacológica de nuestro país.

Autor: Roberto Enrique Stetson

Se aplicó la metodología establecida por Lemma 1970 y WHO 1961 sobre ejemplares de *Biomphalaria tenagophila* en cuatro etapas del ciclo vital de los moluscos: adultos, juveniles, bionatos y huevos.

Se utilizó el análisis estadístico Dosis-mortalidad para el análisis biométrico y de bioensayo, técnicas utilizadas en este campo. Los resultados de dicho análisis se representan gráficamente.

Los ensayos realizados corresponden a la primera etapa del estudio para la determinación del efecto molusquicida según lo indicado por WHO 1961.

Correspondiendo a un ensayo de laboratorio, y se determinó el LD<sub>50</sub> y LD<sub>90</sub> en cuatro etapas del ciclo vital de *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835), (adultos, juveniles, bionatos y huevos).

Se determinó que ninguno de los órganos de *Phytolacca dioica* L. macho y hembra, molidas y en crudo, tienen efectos molusquicidas sobre ninguno de los estadios del ciclo biológico de *Biomphalaria tenagophila*, por lo menos en las dosis recomendadas por la Organización Mundial de la Salud, entre 10 y 25 ppm, como se esperaba, según los resultados obtenidos en investigaciones realizadas en *Phytolacca dodecandra* según Lemma 1970 y WHO 1961 sin embargo el cocimiento de hojas, frutos y flores femeninas y masculinas se demostró la capacidad molusquicida sobre *B. tenagophila*, y los resultados de mortalidad analizados estadísticamente mediante el análisis probit dieron resultados satisfactorios lográndose determinar la dosis letal para el 50 % de los ejemplares expuestos, expresado como LD<sub>50</sub> y para el 90%, LD<sub>90</sub> para adultos, juveniles, bionatos y huevos.

Las flores femeninas resultaron ser el órgano de la planta con mayor actividad molusquicida ya que se requirió dosis menores entre 780 y 985 ppm para lograr LD<sub>50</sub> y entre 965 y 1340 ppm para el LD<sub>90</sub> de todas las etapas del ciclo biológico de *Biomphalaria tenagophila*.

Así, *Phytolacca dioica* provee un medio económico, asequible y eficaz para el control del vector de la enfermedad.

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. ANTECEDENTES

Los moluscos planorbideos, *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835), *B. estraminea* (Dunker, 1848) y *B. glabrata* (Say 1818) son los principales transmisores de la esquistosomiasis mansónica en América del Sur (1).

En la Argentina no se han registrado casos autóctonos de esquistosomiasis, pero la Provincia de Misiones, presenta la mayor parte de su territorio limitando con Brasil, donde ésta parasitosis se encuentra en franca expansión existiendo ya focos endémicos en los Estados de Paraná, Santa Catarina y Río Grande do Sul, limítrofes con la Región mesopotámica de nuestro país (1) (2).

Dicha región y otras tropicales de nuestro país, no sólo tienen el clima favorable para la transmisión de la esquistosomiasis, sino también las condiciones socio-económicas apropiadas.

La enfermedad se puede controlar por métodos quimioterapéuticos pero presentan inconvenientes como su elevado costo y su reincidencia. La Organización Mundial de la Salud ha priorizado el empleo de productos naturales molusquicidas para el control de la esquistosomiasis debido a su bajo costo y rápida biodegradabilidad; ante éste panorama, es necesario hallar nuevas alternativas ecológicas de control como el uso de productos naturales que, siendo parte del ecosistema, son muchos más compatibles y menos tóxicos para el ambiente (3).

Se conocen estudios realizados con extractos de las hojas de *Didymopanax morototoni* (Aubl.) Decne. & Planch. (Araliaceae) y *Mammea americana* L. (Guttiferaceae), que a 50 ppm, eliminó a todos los ejemplares de *Biomphalaria glabrata* después de 24 horas de exposición, y en las mismas condiciones, los extractos de *Furcraea tuberosa*, *Argemone mexicana* y *Paullinia pinnata* mataron al 50% de los caracoles, mientras que *Solanum americanum* eliminó al 33%. (4).

Se evaluó la actividad molusquicida de los principios activos de las hojas de *Solanum lycopersicum* (Solanaceae) "tomate" sobre *Biomphalaria glabrata* principal hospedador intermediario del *Schistosoma mansoni* Sambon 1907 (5).



También se describe la actividad molusquicida del Paraíso (*Melia azedarach* L.) (Meliaceae) sobre *Lymnaea cubensis* (Pfeiffer, 1839), molusco vector de la Fasciolosis (6). Estudios de laboratorio sobre la acción molusquicida de la resina de pino, (colofonia) sobre *Biomphalaria havanensis* (Pfeiffer, 1839) (7).

Estudios con diferentes concentraciones del extracto acuoso del *Agave elegrelliana* Jacobi sobre el molusco *Biomphalaria havanensis* (Pfeiffer, 1839) (8).

Se han investigado actividad molusquicida sobre *Biomphalaria glabrata* de extractos de 23 plantas brasileiras. Fueron probadas sobre ejemplares adultos y desoves de *B. glabrata*, criados en el laboratorio; las especies que demostraron acción molusquicida en concentraciones de 100 ppm fueron *Arthemisia verlotorum* Lamotte, *Caesalpinia peltophoroides* Benth, *Cassia rugosa* G. Don., *Eclipta alba* Hassk, *Euphorbia pulcherrima* Willd, *Euphorbia splendens* Bojer, *Joannesia princeps* Vell, *Leonorus sibiricus* L. *Macrosiphonia guaranitica* Muell, *Nerium oleander* L., *Palicourea nicotianaefolia* Cham. e Schlech., *Panicum maximum* M., *Rumex crispus* L., *Ruta graveolens* L., y *Stryphnodendron barbatiman* M., pero no se realizaron ensayos con el género *Phytolacca*. (9).

Se han investigado las dosis letales de 3 Agaváceas, *Agave legrelliana*, *Agave fourcroydes* y *Agave franzosinii* y la influencia de las LD<sub>50</sub> y LD<sub>90</sub> en la disminución de la actividad cardíaca (10).

Tras los buenos resultados obtenidos con respecto a las propiedades molusquicidas del látex de *Euphorbia splendens*, corroborados en las pruebas de laboratorio y de campo en condiciones restringidas, se realizó un estudio de campo que se llevó a cabo en corrientes experimentales donde habitaban *Biomphalaria glabrata*, (11).

El informe de un grupo de trabajos científicos sobre las directrices para realizar la evaluación de molusquicida, indica que *Phytolacca dodecandra* L'Hér, *Ambrosia maritima* y *Anacardium occidentale*, son las plantas que han mostrado prometedora actividad molusquicida. (3).

Lemma, A.1970 (12) publicó un trabajo de investigación sobre las propiedades molusquicidas de *Phytolacca dodecandra* L'Herit como medida preventiva de la esquistosomiasis, con resultados prometedores; según este trabajo las bayas secas de *P. dodecandra* (conocido también como endod o jaboncillo) son

ampliamente utilizados en Etiopía como jabón para lavar la ropa, observándose que en los cursos naturales de agua donde el endod se había utilizado, había una alta mortalidad de caracoles; posteriormente se constató las propiedades molusquicidas de varias partes de plantas masculinas y femeninas; se determinó que las bayas tenían propiedades más potentes.

La potencia del endod se mantuvo estable en un amplio espectro de temperaturas y valores de pH, en presencia de diversas concentraciones de lodo de río. La toxicidad del endod para los mamíferos y plantas ha demostrado ser muy bajo; su toxicidad para los huevos de caracoles también es baja, pero se ha demostrado que esta dificultad puede superarse con tratamientos repetidos a campo.

El endod elimina también sanguijuelas, cercarias y miracidios de *Schistosoma* en concentraciones muy bajas. Las pruebas comparativas con molusquicidas estándar endod, han dado resultados alentadores; al ser un producto natural, el endod puede convertirse en un medio barato y eficaz para el control de la esquistosomiasis en ciertas áreas, ya que, bajo condiciones climáticas adecuadas, la planta crece rápidamente y produce frutos dos veces al año (12).

En el año 1997, Helaly F. M. et al. (13) publicaron un trabajo sobre preparados de Caucho (estireno / butadieno) utilizado como matriz de unión de las hojas secas en polvo fino de *Phytolacca dioica* L. según la investigación realizada, la saponina contenida en frutos y hojas mata a los gasterópodos de la especie *Biomphalaria alexandrina*, huésped intermediario de la Esquistosomiasis en África; afirman que la saponina efectiva fue del 4,1% en hojas y el 5,9% en los frutos de la planta.

Posteriormente, en el año 2000, el mismo autor (13) publica un trabajo sobre los parámetros que afectan la migración de saponina molusquicida de estireno butadieno que contienen formulaciones de caucho con hojas triturdadas de *Phytolacca dioica* L., aseverando nuevamente las propiedades molusquicidas de esta planta sobre *Biomphalaria alexandrina*.

En la Argentina crece la especie *Phytolacca dioica* y no se conocen trabajos sobre su efecto molusquicida sobre las especies de *Biomphalaria* nativas de Sudamérica, razón por la cual se hace conveniente realizar estudios que demuestren si existe dicha propiedad-acción, teniendo en cuenta que algunas especies de *Biomphalarias* son hospederos intermediarios de la Esquistosomiasis

mansónica en América del Sur, como para *B. tenagophila* y *B. estraminea* propias de la fauna malacológica de nuestro país.

## **1.2. IMPORTANCIA DE LOS MOLUSQUICIDAS EN LA LUCHA CONTRA LA ESQUISTOSOMIASIS**

El rol que los molusquicidas de origen natural juegan en el control efectivo de la esquistosomiasis ha sido bien establecido, en parte, como consecuencia del creciente aumento de los costos de los molusquicidas sintéticos, lo que ha llevado a un creciente interés en las plantas que muestran propiedades molusquicidas. Un aspecto atractivo de los productos vegetales, es que si bien pueden ser altamente tóxicos, se degradan muy rápidamente cuando son liberados en el medio ambiente. (3).

Según el Segundo Informe del comité de Expertos en Bilharziasis de la Organización Mundial de la Salud (15) existen cuatro métodos principales, aislados o combinados para combatir la Esquistosomiasis o bilharziasis: 1) tratamiento masivo de las personas afectadas; 2) reducción o prevención de la contaminación de aguas con huevos del parásito, a través de la provisión de agua potable y educación de la población con respecto a la adopción de hábitos higiénicos, proveyéndolos de servicios sanitarios; 3) reducción o supresión total del contacto con aguas contaminadas; y 4) reducción o eliminación de los moluscos hospederos, fundamentales en la transmisión de la parasitosis.

Sin bien el tratamiento en masa de los humanos infectados, en teoría daría mejores resultados, no ofrece en la práctica, las suficientes garantías para usarlo como único método. En la actualidad lamentablemente los medicamentos existentes no brindan una cobertura adecuada para suprimir las infecciones, además de tener un costo elevado y son poco apropiados para este tipo de estrategia.

Además se sabe que el *Schistosoma mansoni*, puede utilizar hospederos reservorios diferentes al hombre, como animales salvajes, tales como roedores, marsupiales y ganado vacuno inclusive, lo que también hace poco efectivo el tratamiento masivo en humanos.

Del mismo modo, las estrategias para evitar la contaminación de las aguas con los huevos del parásito, sería el uso de servicios sanitarios seguros por parte de la población infestada, pero no asegura la infestación de los moluscos por parte de los hospederos secundarios.



La enfermedad es muy antigua; está descrita en un joven que vivió hace 3.200 años a.c.

## **1.4. SITUACIÓN MUNDIAL**

Según la Organización Mundial de la Salud, en el mundo hay más de 207 millones de personas infectadas, la mayoría de las cuales viven en comunidades pobres, sin acceso al agua potable, ni saneamiento adecuado.

Se calcula que en el mundo puede haber 700 millones de personas en riesgo de infectarse dado que están expuestas a aguas infestadas durante sus actividades agrícolas, domésticas o recreativas. Afecta especialmente a las poblaciones que desarrollan actividades agrícolas y piscícolas, pero también están en riesgo las mujeres que realizan sus tareas domésticas, como el lavado de ropa en aguas infestadas. Los hábitos higiénicos y las actividades lúdicas hacen que los niños sean especialmente vulnerables a la infección. La falta de agua potable y de tratamientos de las excretas, ayudan a la dispersión de focos infecciosos y su permanencia a través del tiempo. (18).

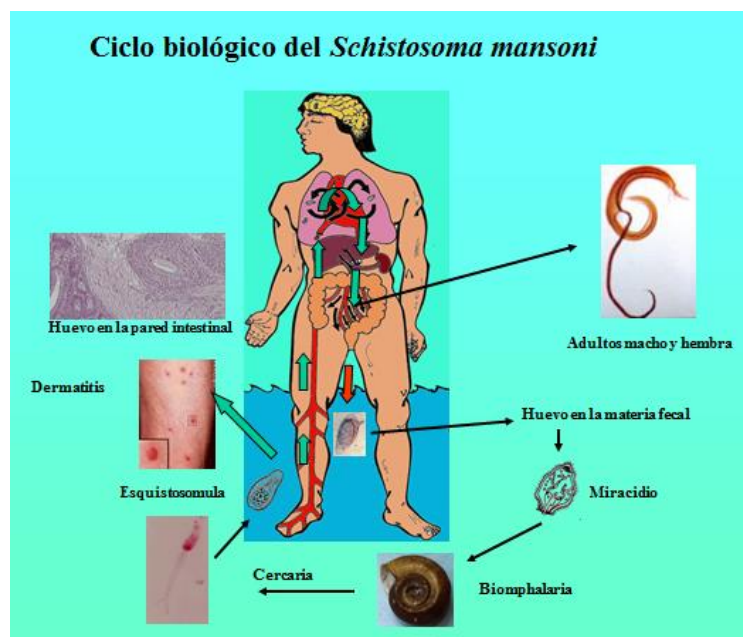
En el nordeste del Brasil y en África, los movimientos de refugiados y la migración hacia las ciudades están introduciendo la enfermedad en nuevas zonas.

El aumento de la población y las correspondientes necesidades de energía y agua, generan a menudo planes de desarrollo y modificaciones ambientales que también contribuyen a aumentar la transmisión. El aumento del ecoturismo y los viajes fuera de las rutas más transitadas, también está provocando que aumente el número de turistas con Esquistosomiasis. (18).

### **1.4.a. La Transmisión**

La transmisión se produce cuando las personas infectadas con esquistosomiasis contaminan fuentes de agua dulce con huevos del parásito, contenidos en la materia fecal u orina (dependiendo del tipo de Esquistosomiasis), que luego eclosionan en el agua. Figura N° 2. (Ver pagina 14).

Autor: Roberto Enrique Stetson



**Figura N° 2. Ciclo Biológico**

De los huevos, al eclosionar en contacto con el agua, se liberan unas larvas no infectantes para el huésped definitivo, llamadas miracidios, que en menos de 24 o 32 horas (19) deben encontrar un caracol de agua dulce que le sirve de hospedero intermediario o vector, un molusco gasterópodo de la familia Planorbidae del género *Biomphalaria* u *Oncomelania* de la familia Pomatiopsidae, al que penetra por la musculatura del pie o los tentáculos; luego de una semana después se reproduce asexualmente transformándose en esporocistos primarios que contiene una gran cantidad de elementos germinales (la susceptibilidad del caracol a la infección por el parásito está influenciada por la temperatura, a 26° C es del 80 % y a 25°C disminuye al 40 %; se calcula que 2 de cada 3 miracidios que llegan al caracol son capaces de infestarlo), luego los esporocistos primarios originan por ruptura de sus cuerpos, esporocistos secundarios, que migran al hepatopáncreas (glándula digestiva del caracol) y continúan multiplicándose, dando lugar a las larvas cercarias, allí dependiendo de la temperatura y luminosidad ambiental, éstas abandonan al caracol huésped, atravesando sus paredes corporales y volviendo a la vida acuática, denominándose entonces metacercarias o furcocercarias (por presentar cola bífida); esta larva es capaz de infectar a un nuevo hospedero definitivo, atravesándole la piel si toma contacto con aguas contaminadas.

El periodo mínimo de evolución del parásito dentro del caracol en condiciones favorables, es de una semana y un solo miracidio en un periodo de 4 a 12 semanas puede originar diez mil larvas cercarias. Las furcocercarias pueden vi-

Autor: Roberto Enrique Stetson

vir en el agua unas 24 o 36 horas, dentro de este periodo deben encontrar a un mamífero para infectarlo, de lo contrario mueren.

La actividad de las metacercarias en el agua se ve estimulada de forma significativa cuando se producen turbulencias, sombras y liberación de compuestos químicos de la piel de los humanos u otro mamífero, lo que confirma la presencia de un posible hospedador en su entorno.

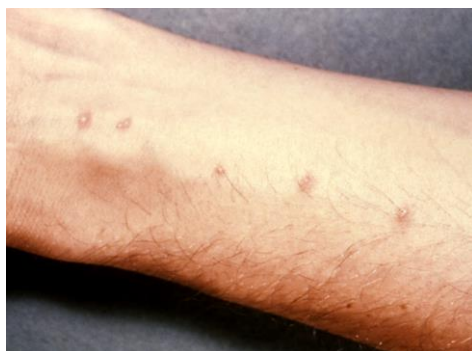
Las personas se infectan cuando toman contacto con aguas en las que se encuentran las larvas cercarias, ya sea al sumergir alguna parte de su cuerpo o ingerirla, las larvas penetran por la piel utilizando unas glándulas que contienen enzimas líticas que permiten atravesar la piel; la larva cercaria pierde la cola y se transforma en larva schistosómula. Figura N° 3.



**Figura N° 3. Larva cercaria de Schistosoma, penetrando la piel humana**  
<http://www.friki.net/fotos/78529-imagenes-cientificas-2-a.html>

Luego de romper las proteínas constitutivas de la piel y tras uno o dos días bajo la misma, deja en el área de la dermis afectada una lesión localizada, con hipersensibilidad, urticaria y/o dermatitis, Figura N° 4 (Ver pagina 16) pasan a los vasos del sistema circulatorio, sanguíneo o linfático, para llegar hasta los pulmones, mientras van adoptando la forma de adultos; posteriormente, vuelven a la sangre para llegar al hígado, donde se instalan en los sinusoides hepáticos, esto conlleva unos ocho días desde la penetración; en esta etapa las larvas se alimentan de eritrocitos.

Autor: Roberto Enrique Stetson



**Figura N° 4. Dermatitis producida por el ingreso de larvas furcocercarias**  
<http://www.viajedorindia.com/index/vacunas/esquistosomiasis.html>

Una característica particular del *Schistosoma* es que en esta etapa del ciclo biológico las hembras se alojan en un surco ventral que forma el macho, plegando los bordes laterales de su cuerpo denominado canal ginecóforo, por lo que su nutrición depende de este último. Figura N° 5.



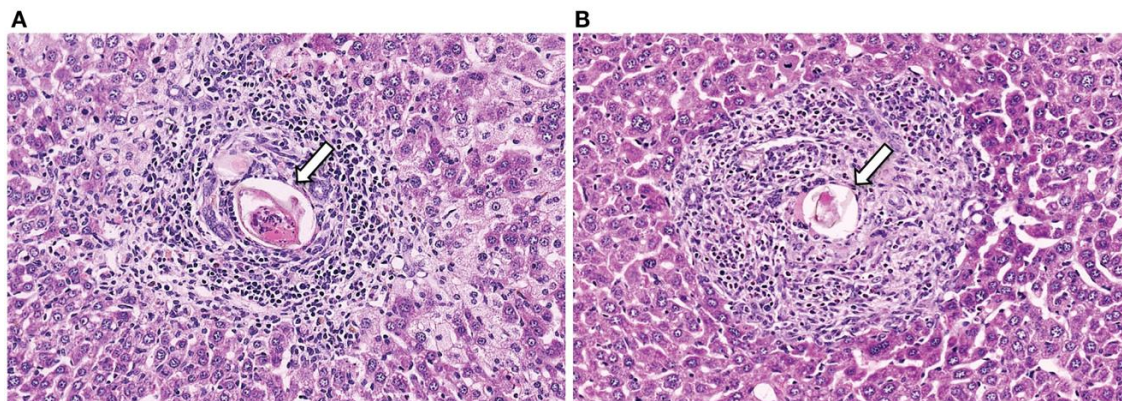
**Figura N° 5. Hembra de *Schistosoma* alojada en el canal ginecóforo del macho.**  
<http://www.nhm.ac.uk/nature-online/species-of-the-day/scientific-advances/disease/schistosoma-mansoni/>

En una anteúltima fase, ambos gusanos (macho y hembra) se instalan en las venas del plexo mesentérico y rectal o dependiendo de la especie en los vasos que irrigan la vejiga, donde llegan a la madurez sexual y las hembras comienzan a colocar sus huevos que en un 50 % de los casos, atraviesan las paredes del intestino o la vejiga provocando necrosis de los mismos para llegar a las



Autor: Roberto Enrique Stetson

luces de los órganos afectados, donde serán evacuados con la heces o la orina. El otro 50% arrastrado por la corriente sanguínea y quedan atrapados en los tejidos corporales Figura N° 6, donde causan una reacción inmunitaria y un daño progresivo de los órganos. (20).



**Figura N° 6. Cortes histológicos (teñidos con H & E) de hígado de una célula T CD4 + empobrecido (A) y normal (B) de ratón, las flechas indican el huevo de *S. mansoni*.**

**Fuente:** <http://journal.frontiersin.org/Journal/10.3389/fimmu.2013.00089/full>

#### **1.4.b. El agente etiológico**

Hay dos formas principales de Esquistosomiasis que afectan al hombre (intestinal y vesical), causadas por las seis (18) Tabla N° 1 (Ver pagina 18), o siete especies. (20), Tabla N° 2. (Ver pagina 19).

Autor: Roberto Enrique Stetson

**Tabla N° 1. Especies de Schistosomas que afectan al hombre en el mundo según la WHO 1914.**

Formas	Especies	Distribución geográfica
<b>Esquistosomiasis intestinal</b>	<i>Schistosoma mansoni</i>	África, Oriente Medio, Caribe, Brasil, Surinam, Venezuela
	<i>Schistosoma japonicum</i>	China, Filipinas, Indonesia
	<i>Schistosoma mekongi</i>	Varios distritos de Camboya y la República Democrática Popular Lao
	<i>Schistosoma intercalatum</i> y su congénere <i>S. guineensis</i>	Zonas de pluviselva de África central
<b>Esquistosomiasis vesical</b>	<i>Schistosoma haematobium</i>	África, Oriente Medio

Autor: Roberto Enrique Stetson

**Tabla N° 2. Distribución y reservorio de las diferentes especies de esquistosoma. (20).**

Especie	Distribución	Reservorio	Huésped inter-mediaro	Síntomas
<i>S. mansoni</i>	África (incluido Madagascar), Península Arábiga, Sudamérica principalmente Brasil, Surinam y Venezuela y algunas islas del Caribe	Humanos, aunque también se han descrito infecciones en roedores	<i>Biomphalaria</i>	Esquistosomiasis hepática
<i>S. haematobium</i>	África (incluido Madagascar) y Próximo Oriente	Humanos	<i>Bulinus</i>	Esquistosomiasis urinaria
<i>S. intercalatum</i>	África del oeste (Gabón, Camerún, Chad, República Democrática del Congo y São Tomé)	Humanos	<i>Bulinus</i>	Esquistosomiasis intestinal
<i>S. japonicum</i> *	Principalmente China, Filipinas y Sula-wesi (Célebes), en Indonesia	Humanos, cerdos, gatos, perros, búfalo de agua, ratas	<i>Oncomelania</i>	Esquistosomiasis intestinal y hepatoesplénica
<i>S. mekongi</i>	Valle del Río Mekong en Camboya, Tailandia y Laos	Perros y humanos	<i>Neotricula</i>	Esquistosomiasis hepática
<i>S. malayensis</i>	Malasia peninsular	Roedores, ocasionalmente infecta a humanos	<i>Robertsiella</i>	Esquistosomiasis hepática
<i>S. matthei</i>	África austral (Sudáfrica y Zimbabwe)	Ganado y ocasionalmente humanos	<i>Bulinus</i>	Esquistosomiasis hepática

\*En Japón no se han encontrados nuevos casos desde 1978.

El género *Schistosoma* (Weinland 1858) es un parásito del Phylum Platyhelmintha y de la Clase Trematoda (21), comúnmente llamados bilharzia, causan la infección más importante entre todos los gusanos planos parásitos: la Esquistosomiasis en el hombre.

#### **1.4.c. Ubicación sistemática del genero *Schistosoma*. Weinland 1858**

Reino Animal Linnaeus, 1758

Subreino: Metazoa

Rama: Enterozoa

Division: Bilateria

Subdivisión: Protostomata

Sección: Acelomata

Phyllum: Platyhelmintha Gegenbaur, 1859

Clase: Trematoda Rudolphi, 1808

Subclase: Digenea Carus, 1863

Superorden: Anepitheliocystida

Orden: Strigeida

Suborden: Strigeata

Superfamilia Schistosomatoidea

Familia Schistosomatidae Poche, 1907

Genero *Schistosoma* .Weinland, 1858

La etimología del género *Schistosoma* del gr. *skisto* (hendido) + *soma* (cuerpo) es debido al surco o canal ginecóforo que presenta el macho y donde se aloja la hembra en forma permanente durante la adultez del verme. (22).

La fase adulta fue descubierta por primera vez por Theodor Maximilian Bilharz, médico alemán, Profesor de la facultad de Medicina de El Cairo en Egipto en 1851, a partir de material obtenido de la autopsia de un paciente. Pero la relación entre el molusco hospedador intermediario y el parásito, recién se conoció a principios del siglo XX. (24).

Los gusanos adultos alcanzan a medir entre los 6,4 y 12 milímetros de longitud por 0,11 a 0,44 mm de ancho el macho y entre 7,2 y 26 mm de largo y 0,16 mm la hembra. (19); (20) Figura N° 7.

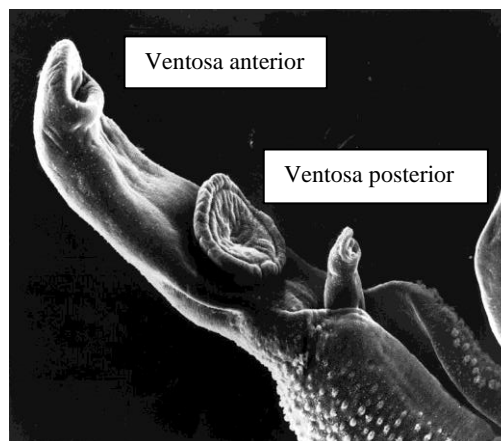
Presentan simetría bilateral; tienen dos ventosas para la fijación una oral y otra ventral anterior denominada acetábulo, Figura N° 8 tubo digestivo incompleto, con boca, esófago e intestino bifurcado posteriormente y carecen de ano; el aparato reproductor masculino presenta un número variable de testículos en las distintas especies y constituye un carácter taxonómico relevante, además un

Autor: Roberto Enrique Stetson

canal eyaculador, vesícula seminal, un órgano copulador y un poro genital; el femenino, comprende ovario, útero.



**Figura N° 7. Hembra y macho de Schistosoma**  
<http://pathmicro.med.sc.edu/parasitology/sjapomf.jpg>



**Figura N° 8. Ventosas de Schistosoma**

Fuente:: [http://es.org/wiki/Schistosoma#mediaviewer/File:Schistosome\\_Parasite\\_SEM.jpg](http://es.org/wiki/Schistosoma#mediaviewer/File:Schistosome_Parasite_SEM.jpg)

Con tegumento sincitial metabólicamente activo para extraer componentes de la hemoglobina de su hospedador

El *Schistosoma* puede vivir hasta cinco años en el interior de una persona y llega a la madurez sexual a las seis u ocho semanas de la infección, a partir de este momento las hembras empiezan a desovar entre 300 y 3.000 huevos al día cerrando así el ciclo vital. El género *Schistosoma* puede parasitar a una gran cantidad de especies, de mamíferos silvestres y domésticos, además del hombre. (25).

#### **1.4.d. Epidemiología**

La esquistosomiasis es prevalente en las regiones tropicales y subtropicales, especialmente en las comunidades pobres, sin acceso al agua potable y saneamiento adecuado.

Se estima que al menos un 90% de las personas que necesitan tratamiento contra la esquistosomiasis viven en África.

Por lo menos 249 millones de personas requirieron tratamiento preventivo para la esquistosomiasis en 2012 y el número de personas que habrían sido tratadas fue de 42,1 millones.

El tratamiento preventivo, debería repetirse por lo menos durante algunos años para reducir y prevenir la morbilidad.

La transmisión de la esquistosomiasis se ha informado en 78 países, sin embargo, la quimioterapia preventiva se realiza en gran escala a personas y comunidades solo en 52 países con moderada a alta transmisión. (26).

#### **1.4.e. Síntomas**

Los síntomas de la esquistosomiasis son causados por la reacción del organismo ante los huevos del parásito en los tejidos de los órganos del hospedador. (26).

La esquistosomiasis intestinal puede producir dolor abdominal, diarrea y melena (sangre en las heces). En los casos avanzados es frecuente la hepatomegalia (aumento de tamaño del hígado), que se asocia frecuentemente a ascitis (acumulación de líquido en la cavidad peritoneal) e hipertensión portal (hipertensión en los vasos sanguíneos abdominales). En esos casos también puede haber esplenomegalia (aumento de tamaño del bazo) (26). Figura N° 9. (Ver página 23).

Autor: Roberto Enrique Stetson



**Figura N° 9. Acumulación de líquido en la cavidad peritoneal**  
[http://dc416.4shared.com/doc/AhB7G5\\_M/preview.html](http://dc416.4shared.com/doc/AhB7G5_M/preview.html)

Según WHO (18), en la esquistosomiasis urogenital, el signo clásico es la hematuria (sangre en la orina). En los casos avanzados son frecuentes la fibrosis de la vejiga y los uréteres, así como las lesiones renales.

El cáncer de la vejiga es otra posible complicación tardía. Las mujeres con esquistosomiasis urogenital pueden presentar lesiones genitales, hemorragias vaginales, dispareunia (dolor durante las relaciones sexuales) y nódulos vulvares. En el hombre puede ocasionar trastornos de la vesícula seminal, la próstata y otros órganos.

La enfermedad también puede tener otras consecuencias tardías irreversibles, tales como la infertilidad.

La esquistosomiasis tiene efectos económicos y sanitarios considerables. En los niños puede causar anemia, retraso de crecimiento y problemas de aprendizaje, aunque los efectos suelen ser reversibles con el tratamiento.

La esquistosomiasis crónica puede afectar la capacidad de trabajo y en algunos casos puede ser mortal. En el África subsahariana hay más de 200 000 muertes al año por esquistosomiasis. (18).

De las diecisiete especies conocidas del género *Schistosoma* solo cuatro son parásitos obligados del hombre; se presume que esta asociación se estable-

ció en agrupaciones humanas primitivas con baja densidad de habitantes como los que todavía hoy existen en África; en ésta, la tasa de infestación nunca supera el 5% y los daños sufridos por los afectados poco evidenciables; aparentemente existe un equilibrio entre el hombre y el parásito, no ocurre lo mismo en áreas con alto índice demográfico donde se rompe ese equilibrio y se produce la dispersión del parásito, favorecido por la presencia de condiciones ambientales adecuadas para el desarrollo de los hospedadores intermediarios y otros factores que participan en el ciclo de vida del parásito, se suma a esto, las frecuentes reinfestación de las personas y la consiguiente intensificación de la endemia, que alcanza a veces al 80% de los niños. (27).

En la actualidad, la dispersión de la esquistosomiasis está estrechamente asociada con los proyectos de desarrollo de recursos hídricos para el riego y la agricultura o para obtención de energía hidráulica que modifica el régimen fluvial de arroyos y ríos deteniendo su corriente y generando embalses con aguas estancadas, que favorecen el desarrollo de los gasterópodos hospederos intermediarios O.M.S 1985 (28), que por otra parte son buenos colonizadores de estos sitios, además de ser hermafroditas con capacidad de autofecundación, conlleva a que se produzcan verdaderas explosiones demográficas, sumado a esto las migraciones humanas infestados con *Schistosoma* hacia estos sitios en busca de un progreso económico, constituyen de este modo, nuevos focos, que se multiplican como un subproducto de proyectos de desarrollo concebidos para brindar mejores condiciones de vida a los habitantes. (27)

#### **1.4.f. Diagnóstico**

La esquistosomiasis se diagnostica a través de la detección de huevos de parásitos en heces u orina dependiendo del tipo de especie involucrado. Los anticuerpos y / o antígenos detectados en muestras de sangre o de orina son también indicativos de infección.

Para la esquistosomiasis urogenital, la técnica habitual consiste en pasar la orina por filtros de nylon, papel o policarbonato. Los niños infestados por *S. haematobium* tienen casi siempre microhematuria, que se puede detectar con tiras reactivas.



En la esquistosomiasis intestinal los huevos pueden detectarse al microscopio en muestras de heces colocadas entre dos portaobjetos de cristal o entre un portaobjeto y papel de celofán empapado en glicerina con azul de metileno.

En el caso de las personas que viven en zonas no endémicas o de baja transmisión, las pruebas serológicas e inmunológicas podrían ser útiles para determinar la exposición a la infección y la necesidad de realizar un examen, un tratamiento y su seguimiento a fondo. (18).

#### **1.4.g. Prevención y control (18)**

La prevención y el control de la esquistosomiasis se basan en la quimioprofilaxis, el control de los caracoles, la mejora del saneamiento y la educación sanitaria.

La estrategia de la WHO para controlar la esquistosomiasis se centra en la reducción del número de casos mediante el tratamiento periódico y focalizado con prazicuantel. Esto implica el tratamiento periódico de todas las personas pertenecientes a grupos de riesgo. En unos pocos países, en los que la transmisión es baja, se debería procurar la eliminación de la enfermedad.

Los grupos destinatarios del tratamiento son:

- los niños en edad escolar de las zonas endémicas;
- los adultos que se consideren en riesgo en las zonas endémicas, como las mujeres embarazadas y lactantes, las personas cuyos trabajos impliquen contacto con aguas infestadas, como la pesca, las labores agrícolas o la irrigación, y las mujeres cuyas tareas domésticas las ponen en contacto con aguas infestadas;
- las comunidades enteras residentes en zonas endémicas.

La frecuencia del tratamiento depende de la prevalencia de la infección en niños de edad escolar. En zonas con transmisión alta el tratamiento puede tener que repetirse anualmente durante varios años. El seguimiento es esencial para determinar los efectos de las intervenciones de control.

El objetivo consiste en reducir el número de casos: el tratamiento periódico de las poblaciones en riesgo curará los síntomas leves y evitará que las personas infectadas desarrollen las fases tardías de la enfermedad crónica grave. Aho-

ra bien, una de las principales limitaciones para el control de la esquistosomiasis es la disponibilidad de parasitidas específicos. Los datos de 2012 revelan que solo se pudo administrar tratamiento al 14,4% de las personas que lo necesitaban.

La lucha contra la esquistosomiasis se ha realizado con éxito en los últimos 40 años en algunos países, entre ellos Arabia Saudita, el Brasil, Camboya, China, Egipto y Mauricio. Existen datos que señalan la interrupción de la esquistosomiasis en Marruecos. En Burkina Faso, el Níger y el Yemen se pudo extender el tratamiento de la esquistosomiasis al ámbito nacional y se consiguieron resultados en pocos años. En algunos países se está evaluando el estado de la transmisión.

En los últimos 10 años se han realizado campañas de tratamiento a gran escala en algunos países subsaharianos en los que viven la mayor parte de las personas en riesgo.

En 2012 se recibieron informes de 31 países sobre el tratamiento de prevención de la esquistosomiasis. El número de personas tratadas contra la misma aumentó un 40% entre 2011 y 2012, y totalizó 42,1 millones y lo ideal sería que mantenga esa tendencia ascendente del número de personas tratadas.

#### **1.4.h. Respuesta de la WHO 2014 (18)**

La labor de la WHO en relación con la esquistosomiasis forma parte de una estrategia integrada de control de las enfermedades tropicales desatendidas. Aunque son muy diversas desde el punto de vista médico, estas enfermedades tienen características comunes que hacen que persistan en condiciones de pobreza, en las que se suelen agregar y solapar.

La WHO coordina la estrategia de quimioprofilaxis en consulta con los centros colaboradores y los asociados de las instituciones académicas y de investigación, del sector privado, de las organizaciones no gubernamentales, de los organismos internacionales y de otras organizaciones de las Naciones Unidas. La WHO también elabora directrices técnicas e instrumentos para uso de los programas nacionales de control.

## 1.5. LA ESQUISTOSOMIASIS EN LAS AMÉRICAS

La única especie de *Schistosoma* que logró establecer focos autóctonos en el continente americano es *S. mansoni*, Sambon 1907 que produce un tipo de Esquistosomiasis intestinal. Lombardero 1978 (22), se encuentra en 52 países WHO 2014 (18) de diferentes regiones del mundo desde la península arábiga hasta Brasil. (28).

La denominación específica del género es en honor Sir Patrick Manson (1844 – 1922) que realizó importantes descubrimientos en parasitología y fue el creador tropical. (22), (29)

### 1.5. a. Características Morfológicas diferenciales de *Schistosoma mansoni*

Al igual que otros digeneos, *Schistosoma mansoni* Sambon 1907 presenta el cuerpo aplanado dorsiventralmente, es un gusano no segmentado, con un tegumento sincitial, capaz de absorber los nutrientes.

Los machos miden entre 6,4 y 10 mm de longitud y solo 0,44 mm de ancho, es considerablemente más ancho que las hembras que miden entre 7,2 y 14 mm por 0,16 mm de grosor, con cuerpo cilíndrico y más largo a diferencia del macho. (19). Figura N° 10.



Figura N° 10a y 10b Ejemplares macho y hembra de *Schistosoma mansoni*.

Fuente: <http://www.ppdictionary.com/parasites/mansoni.htm> y  
[http://dc416.4shared.com/doc/AhB7G5\\_M/preview.html](http://dc416.4shared.com/doc/AhB7G5_M/preview.html)

Autor: Roberto Enrique Stetson

El aparato genital masculino consta de 6 a 9 testículos conectados a un conducto deferente que se dilata en una vesícula seminal y las hembras tienen un solo ovario en la mitad anterior del cuerpo y pueden efectuar de 250 a 300 puestas por día constituidas por 20 a 50 huevos o sea 5.000 a 15.000 huevos en 24 horas. (19). Figura N° 11.

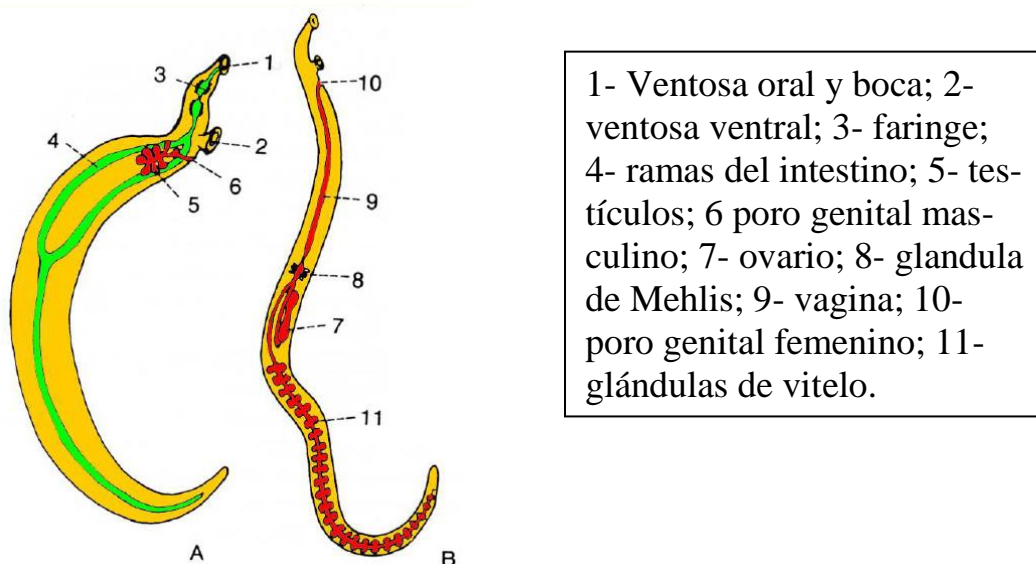


Figura N° 10. Características anatómicas de *Schistosoma mansoni* A- Macho y B- hembra de *Schistosoma*

### 1.5. b. El tegumento

En los individuos machos de *Schistosoma mansoni*, analizados al microscopio electrónico de barrido, se puede observar que presentan dos porciones distintas: una vista anterior corta, delgada y cilíndrica que contiene la ventosa oral y la ventosa ventral.

La ventosa ventral es más grande y más prominente que la ventosa oral.

La parte posterior del cuerpo es larga y contiene el canal ginecóforo. El área entre las ventosas orales y ventrales no presentan tubérculos, espinas o papilas sensoriales y en la región posterior de los gusanos adultos, existen tubérculos con numerosas espinas que se distribuyen por todo el cuerpo, (30), que lo diferencia de otras especies. Figura N° 11. (Ver pagina 29).

Autor: Roberto Enrique Stetson

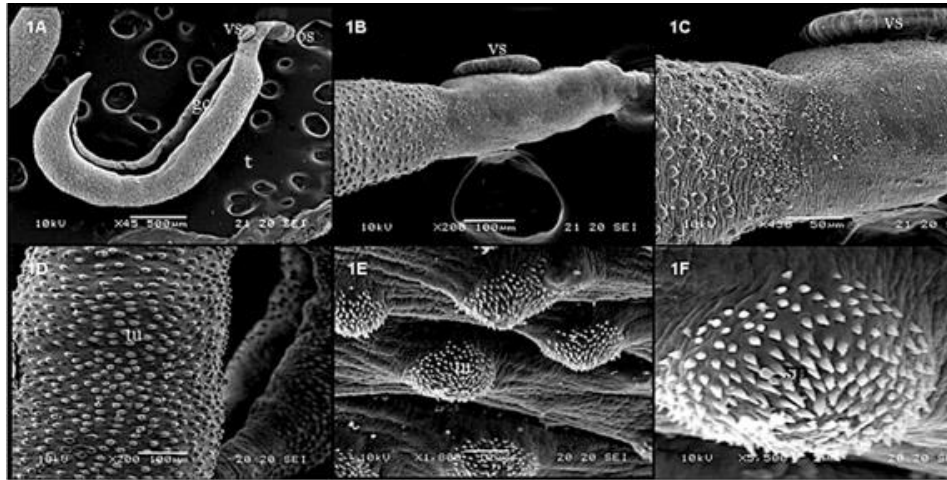


Figura N° 11. Aspectos morfológicos del tegumento de *Schistosoma mansoni* vistos al microscopio electrónico. Bezerra Luna Lima 2011 (30).

La hembra es más oscura que el macho debido a una mayor cantidad de pigmentos llamado hemozoína derivado de la hemoglobina del hospedador.

Los huevos del *S. mansoni* se diferencian de otras especies por ser de forma alargada de entre 114 a 180  $\mu\text{m}$  x 45 a 73  $\mu\text{m}$ , con un espolón lateral- cerca de la extremidad posterior que apunta hacia atrás y presenta una cáscara transparente. En su interior se puede apreciar la larva miracidio. Figura N° 12.



Figura N° 12. Huevos de *Schistosoma*: (Izquierda) *S. mansoni*; (Centro) *S. haematobium*; (Derecha) *S. japonicum*.

Fuente:: <http://www.gefor.4t.com/concurso/parasitologia/schistosomes.gif>

El miracidio de *S. mansoni* es un estadio larvario que sale del huevo del parásito que mide entre 180 y 62  $\mu\text{m}$  y se mueve activamente a través de cilias, en menos de 32 horas debe encontrar a su caracol hospedador antes de morir, ya que es incapaz de alimentarse. Figura N° 13. (Ver pagina 30).

Autor: Roberto Enrique Stetson



**Figura N° 13. Miracidio de *S. mansoni* tomada del Atlas de Parasitología del Instituto de Biología de la UNICAMP**

La cercaria es una larva de *S. mansoni*, que se caracteriza por presentar una región anterior de unos 200 µm, con el extremo anterior aguzado y el posterior ensanchado, posee dos ventosas, una alrededor de la boca y otra en la parte posterior, provista de glándulas con enzimas líticas para atravesar el tegumento de sus hospedadores definitivos, también se puede observar espinas y papilas sensoriales; externamente están cubiertas por un tegumento trilaminar, denso y refráctil. En la región posterior, presenta una cola larga y bifurcada.

Las cercarias son larvas de vida libre y nadadoras; están diferenciadas sexualmente en machos y hembras, el último estadio larvario; no se alimentan y pueden permanecer activas por 96 horas. Figura N° 14. (Ver pagina 31).



Autor: Roberto Enrique Stetson



Diagram of *Schistosoma mansoni* cercaria

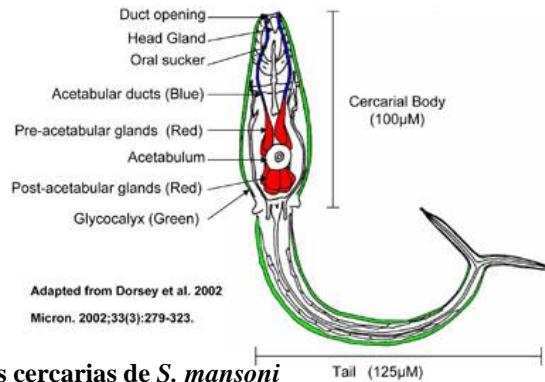


Figura N° 14. Larvas cercarias de *S. mansoni*

<http://grupoenfermeriaunpa.blogspot.com.ar/2012/06/schistosoma-mansoni.html>

### 1.5. c. Epidemiología en América

La Esquistosomiasis causada por el *S. mansoni* actualmente es endémica en cuatro países de América del Sur: Brasil, Venezuela, Surinam y Santa Lucía aunque se estima que en Surinam y Santa Lucía la transmisión es muy baja y podrían interrumpir la transmisión en un corto periodo.

Aproximadamente 1,6 millones de niños en edad escolar requieren tratamiento quimiopreventivo (principalmente en el noreste de Brasil y Venezuela).

En Antigua, Guadalupe, Martinica, Montserrat, Puerto Rico y República Dominicana, podrían haber interrumpido la transmisión de la esquistosomiasis y deben evaluar y compilar la evidencia para solicitar la verificación de la eliminación de esta enfermedad a la OPS/ WHO. (31).

### 1.5. d. Situación en Brasil

Según la Revista Panamericana de Salud Pública, desde su llegada al Brasil, la Esquistosomiasis se ha difundido en forma continuada debido a los movimientos migratorios de personas en búsqueda de otras regiones del país que le ofreciera mejores perspectivas para vivir, en cambio en la actualidad, depende de personas que van a las ciudades para trabajar como mano de obra no especializada, en trabajos vinculados a la construcción, la industria y la agricultura; se localizan en áreas periféricas, generalmente carentes de buenas condiciones sanitarias, de este modo la presencia de personas con esquistosomiasis, en áreas con huéspedes intermediarios susceptibles, favorecen la radicación de nuevos focos.

En la actualidad, en Brasil se da una aparente paradoja: aunque la quimioterapia a gran escala ha reducido la prevalencia de esquistosomiasis, la enfermedad se está difundiendo a otras áreas, probablemente en función de los movimientos migratorios. En el municipio de Araxá, donde el presente estudio había detectado un único caso autóctono, la esquistosomiasis se introdujo en la década de 1940 como consecuencia de la construcción de un hotel, proyecto que por su envergadura atrajo a migrantes de áreas probablemente infectadas. (62).

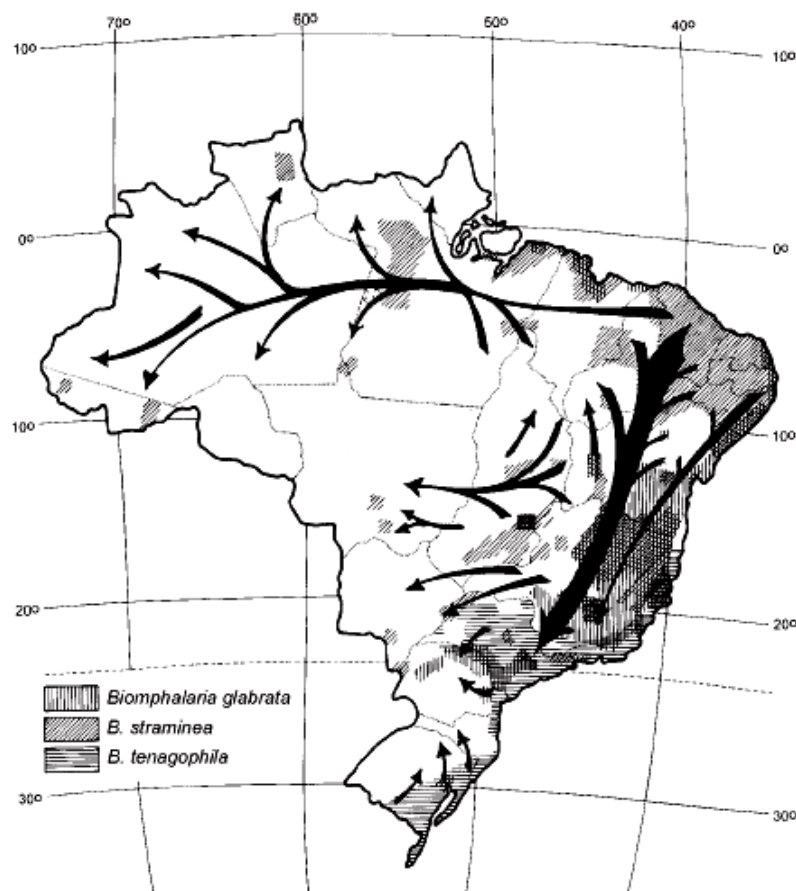
La esquistosomiasis tiene, en el Brasil, como límites meridionales de distribución geográfica a localidades ubicadas en los estados de Paraná, Santa Catarina y Río Grande do Sul, que limitan con la Argentina. (32).

La OMS (33) estimó que en el Brasil existirían unos seis millones de personas infestadas de Esquistosomiasis, otros trabajos estiman entre 8 y 12 millones. (34).

La presencia en Brasil de moluscos gasterópodos hospederos intermedios como *Biomphalaria glabrata*, *B. straminea* y *B. tenagophila* favorecieron la creación de focos autóctonos (35), (36). Figura N° 15. (Ver página 33).



Autor: Roberto Enrique Stetson

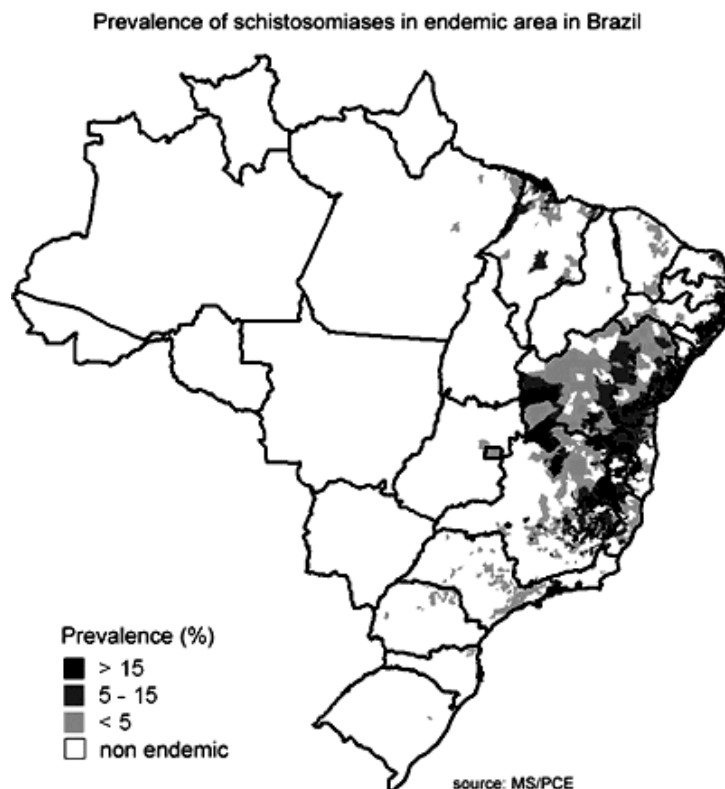


**Figura N° 15. Flujo de la migración humana y la distribución de los hospederos intermedios de la esquistosomiasis en Brasil.**

**Fuente: Coura & Amaral. 2004 (37).**

La transmisión de la Esquistosomiasis en el 2004 se producía en una amplia zona con focos autóctonos en Maranhão de Espírito Santo y Minas Gerais y focos aislados en el Distrito Federal y en los estados de Pará, Piauí, Goiás, Río de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina y Rio Grande do Sul y hay casos importados de personas infectadas desde zonas endémicas en casi todo el territorio nacional, principalmente en los estados como Rondônia considerado como centros de migración. (37). Figura N° 16. (Ver pagina 34).

Autor: Roberto Enrique Stetson



**Figura N° 16. Prevalencia de la esquistosomiasis en distintas áreas endémicas de Brasil**

**Fuente:** [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02762004000900003&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02762004000900003&script=sci_arttext)

#### **1. 5. e. La situación en el sur del Brasil y en la Argentina**

El área endémica en Brasil, restringida a principios del siglo XX a áreas del Nordeste a principios del siglo, se extendió hacia el Sudoeste a causa de los movimientos migratorios y a la construcción de represas en diferentes estados hacia el Sur del país.

Desde la década del 40, el norte del estado de Paraná que limita con la provincia de Misiones se ha constituido en una zona hiperendémica sobre los tributarios del río Paraná, donde se construyeron decenas de represas, Figura N° 17 (27) (Ver pagina 35); la especie que actúa como hospedero intermediario en esas áreas es *Biomphalaria glabrata*, Say 1818, que aún no está presente en la Argentina. Figura N°18. (Ver pagina 35).

Autor: Roberto Enrique Stetson

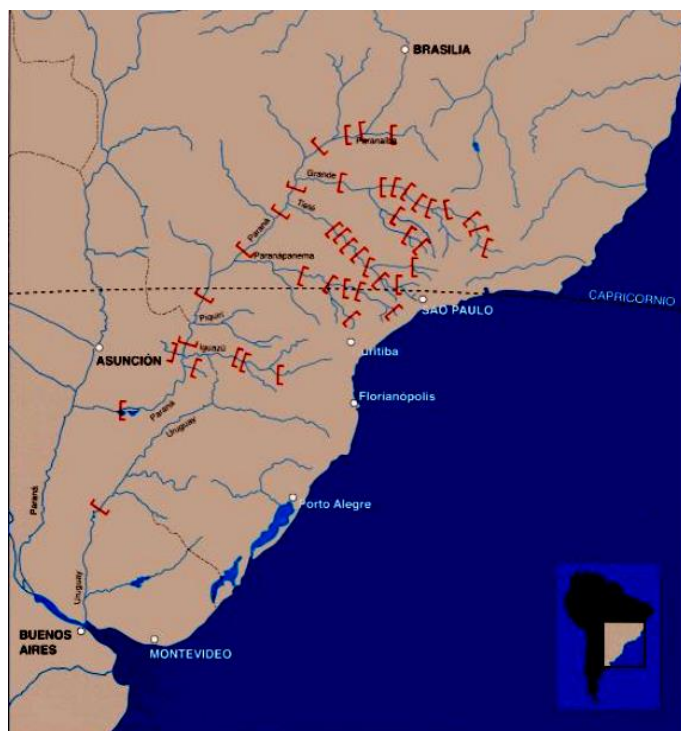


Figura N° 17 Distribución de las represas hidroeléctricas construidas en la cuenca del Plata por Brasil.  
Fuente: (27)



Figura N° 18. *Biomphalaria glabrata*. Say 1818

Fuente:

<http://www.xenophora.org/Iconographie/Planorbidae/Biomphalaria%20glabrata%202/Cadre%20Biomphalaria%20glabrata%202.html>. Asociación Conquiliológica francesa

En la década de los 70 se detectaron poblaciones importantes de esta especie y focos autóctonos de esquistosomiasis a unos 200 km de la frontera argentina.

El límite de su distribución fue ubicado en 1965 en Curitiba, donde se produjo un foco; esa población se extinguió en 1982, pero en 1997 *B. glabrata* fue hallada mucho más al sur, cerca de Porto Alegre (39), (27).

En el litoral brasileño y en la cuenca del plata se encuentra la especie *B. tenagophila* que también sirve de hospedador intermediario y se ha comprobado poblaciones en dos localidades del Paraguay (Ayolas y Encarnación) y, en seis de las Argentina (Posadas), Rincón de Vences, Maloyas, Berón de Astrada, Goya y Pay-Ubre, que son susceptibles entre el 2 y el 22% a la infección experimental con la cepa SJ2 de *Shistosoma mansoni*, (40).

El foco de esquistosomiasis más austral del Brasil en São Francisco do Sul en el Estado de Santa Catarina ocurrido en 1980 esta asociado con ésta especie de *Biomphalaria*. (27).

## **1.6. Descripción de *Phytolacca dioica* L. “Ombú” (Phytolaccaceae)**

**1.6.a. Clasificación taxonómica de *Phytolacca dioica* L.** según Stevens, 2012 (41) Angiosperm Phylogeny Website. Version 12, Julio 2012. Fuente: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb>

Reino: Plantae

Sin clasificar: Angiosperms

Sin clasificar: Eudicots

Sin clasificar: Core eudicots

Clase: Eudicotyledoneae

Subclase: Caryophyllidae, Takhtajan, 1967

Superorden: Caryophyllanae, Takhtajan, 1967

Orden: Caryophyllales, Perleb, 1826

Suborden: Phytolaccineae

Familia: Phytolaccaceae, R. Brown, 1818 - Pokeweed Family

Subfamilia: Phytolaccoideae

Tribu: Phytolaccae (R. Br.) Duby

Género: *Phytolacca*, Linnaeus, Sp. Pl. 1: 441. 1753; Gen. Pl. ed. 5, 200. 1754.

Género y Especie: *Phytolacca dioica* L. (BayScience Foundation, 2009).

Autor: Roberto Enrique Stetson

Sinónimos: *Phytolacca arborea* Mog. Pro. Sym. nom. Nud., *Phytolacca populi-folia* Salisb., *Pircunia dioica* (L.) nom. illeg., *Sarcoca dioica* (L.) Raf.

Nombres vulgares: Belasombra. Bellasombra. Calamaic. Cebileiro. Figueira. Guaba. Guatrá. Humbí. Imboú. Jakalamaik. Kalmaic. Maria mole. Moro-lawén. Ombusillo. Rey de la Pampa. Umbu. Umbuzeiro. Ymboú. Yvyra ypypy guasú.

### **1.6.b. Caracterización de *Phytolacca dioica* L.**

El nombre genérico *Phytolacca dioica* deriva de phyton (que en griego significa planta) y lacca (laca, colorante); el nombre específico, alude a su condición de planta dioica, es decir árboles unisexuales; recibe entre otros nombres vulgares el de Ombú, Bellasombra, Rey de la pampa, Peúdo.

El nombre científico deriva del guaraní “*imboú*”, que significa “árbol que atrae la lluvia”. Según cuenta una la leyenda *Imboú*, era el nombre de una mujer que tratando de salvar con gran esfuerzo una plantación de maíz durante un largo período de sequía, hasta que finalmente sola le quedaba una planta, desolada se arrodilló junto a ella y llorando, la cubrió con su cuerpo para darle sombra y protegerla así de los rayos del sol; luego de cierto tiempo las personas del lugar encontraron a la planta de maíz, bajo la sombra de un frondoso árbol, al cual denominaron Ombú, en honor a esa mujer.

### **1.6.c. Descripción Botánica.**

#### **Exomorfología**

Se trata de un árbol muy corpulento y robusto, dioico, de fuste principal corto y engrosado en la base, copa globosa y frondosa. Cuando crece aislado se eleva unos 15 m de altura. Follaje caduco o semipersistente. Corteza castaña. Presenta hojas simples, alternas, lámina anchamente oblonga u ovalo - elípticas, de 5 a 13 cm de longitud por 2 a 8 cm de latitud, sin pelos, nervadura central amarilla, prominente en el envés, borde entero amarillo, ápice agudo, base redondeada y con largos pecíolos. Venación y peciolo rojizos en las hojas jóvenes. Figura N° 19. (Ver pagina 38).

Autor: Roberto Enrique Stetson



**Figura N° 19** Hojas de *Phytolacca dioica*

Las flores dispuestas en racimos colgantes de hasta 20 cm de largo, apétalas, verde amarillentas, unisexuales; la floración ocurre a comienzos del verano Figura N° 20.



**Figura N° 20.** Flores de *Phytolacca dioica* macho (izquierda) y hembra (derecha)

Los frutos son bayas múltiples, dispuestas en infrutescencias de 7 a 13 cm de largo, carnosas, parecidas a pequeños zapallitos achatados, verdosas al principio, amarillas o naranjas en la madurez; la fructificación ocurre entre verano y otoño; sus semillas son negras de 1 a 2 mm de diámetro. Figura N° 21. (Ver página 39).

Autor: Roberto Enrique Stetson



**Figura N° 21. Fruto de *Phytolacca dioica* L.**

Una de las características más notorias de *Phytolacca dioica* es el gran desarrollo de la porción basal del tronco, que se engrosa considerablemente cuando adultos.

Se constituye así una especie de pedestal irregular de donde se desarrollan troncos secundarios de distintos grosores.

El tallo tiene crecimiento secundario anómalo: posee capas leñosas (xilema secundario) y blandas (floema, parénquima) alternadas, que ofrecen un aspecto estratificado y este hecho impide la formación de duramen. Guaglianone, 1987 (42).

### **1.7. Usos y propiedades**

El ombú, *Phytolacca dioica* L. suele ser cultivado como planta ornamental en plazas y parques por su porte y su abundante follaje que sirve de sombra.

En medicina popular, se utilizan sus hojas para aliviar cefalalgias, para cicatrizar y coagular las heridas. La raíz es emética.

El cocimiento de la raíz es antirreumática. Las cenizas de la corteza tienen potasa que se emplea en la fabricación de jabón. Los hacheros, utilizan cenizas de ramas y hojas y las espolvorean sobre las heridas por tener propiedades anti-sépticas y astringentes. En el campo, la infusión de las hojas, es utilizada para purgar al ganado. Por su poder purgante y a modo de broma se las pone en el mate de alguna persona indeseable. Martínez (43).

Las infusiones de sus hojas y la corteza de la raíz tienen efecto emético (provoca el vómito) y purgante (provoca un vaciado intenso de los intestinos).

Según Toro Vega, 2009 (50) en su Memoria para optar al Título de Químico Farmacéutico, de los frutos (bayas) de *Phytolacca dioica* se obtuvieron tres extractos: EDCM (extracto diclorometano), EM (extracto metanólico) y EB (extracto butanólico), ocupados para evaluar una posible actividad analgésica debido a que se usa tradicionalmente por su actividad antiinflamatoria y se sabe que ambas propiedades están estrechamente relacionadas.

Los ensayos preliminares mostraron que el EDCM contiene principalmente sustancias triterpénicas, el EM flavonoides y el EB mayoritariamente saponinas triterpénicas además de flavonoides glicosilados.

Para evaluar analgesia aguda se ocupó el ensayo retirada de la cola (Tail-Flick), probando tópicamente 6, 3, 1 y 0,5 % p/v (g/ml) por peso de ratón obteniendo EC (concentración efectiva)  $50\ 5,2 \pm 0,9$ ;  $2,9 \pm 0,2$  y  $2,2 \pm 0,1$  para el EDCM, EM y EB respectivamente.

Otro ensayo realizado para evaluar analgesia aguda fue la placa caliente (Hot-Plate) probando dosis intraperitonealmente de 600, 300, 100 y 50 mg/kg por peso de ratón obteniendo  $ED_{50}$  para el EDCM  $548,4 \pm 93,9$  y para EM  $217,8 \pm 21,6$ .

La administración intraperitoneal de 600 mg/kg del extracto butanólico resultó ser tóxica, entonces se probaron 300, 200, 100 y 50 mg/kg intraperitonealmente para dicho extracto obteniendo como  $ED_{50}$   $123,3 \pm 4,2$ .

Al obtener las respectivas  $ED_{50}$  (en la placa caliente) se las evaluó en presencia de CFA (complete Freund's adjuvant) a las 24 horas y a los 7 días, además se incluyó la tinción con Evan's blue para evaluar progresión del edema generado en la pata derecha del ratón.

En el HP/CFA (Comparación de la razón mg/ml para pata sana y para pata inflamada en ensayo crónico) de 24 horas al probar 123 mg/kg ip del extracto butanólico, hubo signos de intoxicación entonces se probó en este caso la  $ED_{25}$  45 mg/kg obteniendo % MPE (Metodología para la evaluación del proceso)  $68,9 \pm 12,5$ .



Para los EDCM y EM se obtuvo  $68,9 \pm 10,7$  y  $65,9 \pm 9,9$  % MPE respectivamente. En el HP/CFA de 7 días los % MPE fueron  $46,0 \pm 7,7$ ;  $42,9 \pm 7,3$  y  $80 \pm 12,3$  para EDCM, EM y EB respectivamente.

La extravasación a las 24 horas no mostró ser menor que la del control negativo para ninguno de los extractos y al comparar a los 7 días se obtuvo una discreta disminución con los extractos metanólico y butanólico.

Según los resultados obtenidos de los distintos ensayos (TF (tail-flick), HP (hot-plate) y CFA/HP) fue el extracto butanólico quien tendría la mayor actividad analgésica. Dicha actividad fue mucho menor al compararla con el efecto del fármaco de referencia (ibuprofeno) en cada ensayo.

Mediante el ensayo de decoloración con DPPH (solución metanólica de radical 2,2- difenil-1-picril hidrazilo hidratado) se evaluó la capacidad antiradicalaria de los EM y EB (extracto butanólico) obteniendo IC<sub>50</sub> (Concentração Inibidora 50) 197 y 30 µg/ml respectivamente, lo que refleja una discreta actividad antioxidante.

## **1.8. Fitoquímica**

Los datos de la fitoquímica del ombú son escasos. Se trata de una planta rica en oxalato de calcio, potasio y saponinas. También se ha detectado una fitolacatoxina que sería una mezcla de estas últimas (61).

Los análisis fitoquímicos en varias especies del género *Phytolacca* también muestran que son ricas en saponinas. Dichas especies además han sido descritas por poseer una importante actividad biológica molusquicida, antiinflamatoria y antifúngica Escalante et al. 2002 (49).

## **1.9. Distribución.**

Si bien en la literatura gauchesca, se lo asocia con la llanura pampeana, *Phytolacca dioica* es originaria del noreste cálido y húmedo de la Argentina, su límite austral de distribución es el noreste de Buenos Aires y su presencia en la llanura pampeana es dispersa debido al cultivo.

Autor: Roberto Enrique Stetson

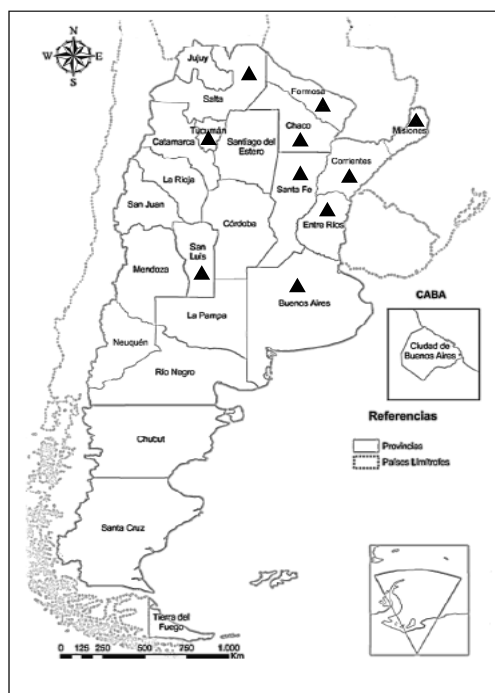
En América del Sur se distribuye en el norte de Argentina, Paraguay, Uruguay y sur de Brasil. Figura N° 22.



**Figura N° 22. Distribución de *Phytolacca dioica* L en América del Sur**

En nuestro país se lo encuentra en Buenos Aires, Chaco, Corrientes, Distrito Federal, Entre Ríos, Formosa, Misiones, Salta, Santa Fe, San Luis, Tucumán (38) bosques ribereños de las provincias de Formosa, Corrientes y Misiones, aunque su centro de distribución parecería ser la región próxima al Iberá. (44) Figura N° 23.

**Autor: Roberto Enrique Stetson**



**Figura N° 23. Distribución de *Phytolacca dioica* L. en Argentina**

En Misiones se encuentra en los departamentos Capital (primera sita), Apóstoles, Caingúas y Eldorado (38) Figura N° 24.



**Figura N° 24. Distribución de *Phytolacca dioica* L. en Misiones**

Autor: Roberto Enrique Stetson

“La Vuelta del Ombú” fue el primitivo nombre de la localidad correntina Gobernador Virasoro (Dpto. Santo Tomé), haciendo alusión a un frondoso árbol, referente del lugar que aún se conserva en el escudo de esa localidad (45) y existe una localidad denominada El ombú, que se encuentra sobre la margen derecha del río Paraná, entre las ciudades de Posadas (Mnes) e Ituzaingó (Ctes).

En la provincia de Misiones existen algunos ejemplares dispersos en distintos barrios de la ciudad de Posadas pero no en el casco céntrico. Figuras N° 25 a y 26 b.



**Figura N° 25 a y 26 b. Plantas de *Phytolacca dioica* de la ciudad de Posadas**

En la ciudad de Buenos Aires se han localizado ejemplares de *Phytolacca dioica* L. uno de ellos, un ejemplar hembra de gran tamaño en la plazoleta ubicada detrás del Palacio Pizzurno y un ejemplar macho también de gran porte en la Plaza San Martín próxima a Retiro; el mismo presenta una oquedad en el medio de la base del tronco utilizado por los linyeras para dormir por la noches y las siestas.

A modo de anécdota, se constató por medio de estudios pertinentes, que el famoso “ombú histórico” que se encuentra en la Plaza Recoleta en la ciudad de Buenos Aires, con referencia incluida en un cartel, no pertenece a un ejemplar de *Phytolacca dioica*. Figura 27. (Ver pagina 45).

Autor: Roberto Enrique Stetson



**Figura 27. “Ombú histórico” referenciado en Plaza Recoleta**

También se cultiva en el extranjero, especialmente en la zona Mediterránea, donde ha logrado aclimatarse (esto dio lugar a la creencia del origen español de esta especie).

Fue introducida por primera vez en Europa por Hernando Colón, hijo de Cristóbal Colón, que plantó varios ejemplares en Sevilla, uno de ellos en el Monasterio de la Cartuja de Sevilla. También se cultiva en Andalucía (46).

Se lo cultiva con fines ornamentales, sobre todo en el Mediterráneo, Canarias, Norteamérica y diversos países de Sudamérica Pamplona, 1996 (47). Es nativa de: Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Colombia, Ecuador, Guyana, Paraguay, Perú, Surinam, USA, Uruguay y Venezuela (48).

Sus características lo hacen apto para los principiantes de la técnica de bonsái.

## **1.10. Caracterización de los moluscos de estudio**

### **1.10.a. Ubicación sistemática**

Phyllum Mollusca

Subphyllum Adenopoda

Superclase Conchifera

Clase Gasterópoda

Orden Basomatophora

Superfam. Planorboidea Rafinesque, 1815

Familia Planorbidae

Genero *Biomphalaria*

Especie *tenagophila*

### **1.10.b. Descripción del género *Biomphalaria***

El género *Biomphalaria* (Gastropoda) apareció en el Jurásico y soportaron una gran variedad de cambios ambientales, lo que conllevó al desarrollo de una serie de estrategias de supervivencia tales como la auto-fecundación, la diapausa, estivación, la capacidad de sobrevivir en zanjas profundas y de alta prolificidad (51), por lo que actualmente se encuentra adaptado a diferentes condiciones ambientales.

El origen del género *Biomphalaria* es americano. El antepasado de *Biomphalaria glabrata* una especie presente en Brasil, colonizó hace millones de años y dio origen a todas las especies *Biomphalarias* africanas (52).

Las poblaciones naturales de estos caracoles se encuentran en las aguas dulces en América del Sur y África, alcanzan los 30° de latitud en las zonas subtropicales.

Muchas especies de estos caracoles son capaces de sobrevivir mucho tiempo cuando se los extraen de su hábitat.

De las 34 especies de *Biomphalaria* existentes en el mundo, 22 son americanas y 12 de África y Madagascar, 4 (*Biomphalaria glabrata*, *Biomphalaria pfeifferi*, *Biomphalaria straminea* y *Biomphalaria tenagophila*) han ampliado recientemente sus distribución original, se han introducido en zonas endémicas

de otras especies de *Biomphalaria* son (por ejemplo, el Congo y Egipto) o a zonas subtropicales que no tienen heladas (Texas, Louisiana, Florida, Hong Kong) (53).

En la Argentina se encuentran 7 especies del género *Biomphalaria*. Rumi 2008 (54).

#### **1.10.c. Lista de especies de *Biomphalaria* de la República Argentina**

*B. intermedia* (Paraense & Deslandes, 1962)

*B. occidentalis* Paraense, 1981

*B. oligoza* Paraense, 1974

*B. orbignyi* Paraense, 1975.

*B. peregrina* (d'Orbigny, 1835)

*B. straminea* (Dunker, 1848)

*B. tenagophila* (d'Orbigny, 1835)

#### **1.10.d. Descripción de la especie *Biomphalaria tenagophila***

*Biomphalaria tenagophila* presentan una concha levógira (abertura de la concha hacia la izquierda), sin embargo, parece dextrógira (abertura de la concha hacia la derecha), porque el animal la lleva con la cara del "ombbligo" hacia arriba. De color pardo amarillento, discoidal y simétricamente bicóncava, con 5 o 6 espirales. La abertura es circular o ligeramente ovalada. Presenta finas líneas transversales. Mide cerca de 1,5 centímetros, aunque algunos individuos superan los 2 cm. Figura N° 28.

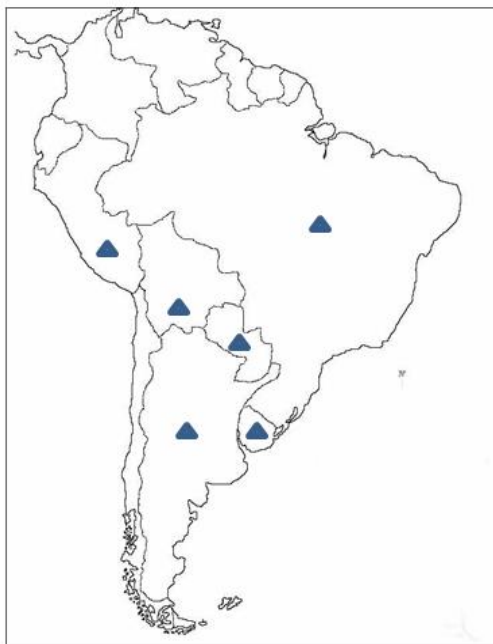
El cuerpo del molusco mide entre 3 y 5 centímetros de longitud. Está dotado de una rádula con unas 150 hileras de dentículos, con los que obtiene el alimento raspándolo.



**Figura N° 28. Concha de *Biomphalaria tenagophila***

Autor: Roberto Enrique Stetson

Su área de distribución comprende Perú, Paraguay, Bolivia, Brasil, Uruguay y Argentina, y se ha encontrado en lugares tan apartados de su localización nativa (105) Figura N° 29.



**Figura N° 29. Mapa de distribución *Biomphalaria tenagophila* en America del Sur**

En Argentina se ha confirmado la presencia de *Biomphalaria tenagophila* en las provincias de Jujuy; Salta; Tucumán; Formosa; Chaco; Misiones; Corrientes; Entre Ríos; Córdoba; Santa Fe; Buenos Aires y Santa Cruz (105) Figura N° 30. (Ver pagina 49).



Autor: Roberto Enrique Stetson



**Figura N° 30. Mapa de distribución *Biomphalaria tenagophila* en Argentina**

En la provincia de Misiones se encontró en el Departamento Capital: en el A° Carpincho; en lagunas y zanjones de la costa del Río Paraná en Nemesio Parma y Posadas; en el A° Zaimán; en el A° Garupá; en el Departamento Candelaria: en la desembocadura de un Arroyito del Destacamento de Prefectura; en A° San Juan; en la laguna del Puerto de Santa Ana; en el Departamento Libertador Gral San Martín: en el A° Tabay; en el Departamento Eldorado: en la Represa Cueva Mini próximo al A° Piray Miní; en el Departamento Iguazú: en el Lago de la Represa Uruguái; en el Departamento San Javier: en la Laguna Salvinia, la Laguna Staquievik y la Laguna Itacaruaré; en el Departamento Apóstoles: en la Laguna Chaikouski y la Laguna Tarnousky (55) Figura N° 31. (Ver pagina 50).

Autor: Roberto Enrique Stetson



**Figura N° 31. Mapa de la distribución de *Biomphalaria tenagophila* en Misiones. Stetson 2008 (106)**

***B. tenagophila* (circulo) y *Lymnaea columella* (triángulo):** 1) Destacamento Prefectura en Nemesio Parma en el Dep. Capital; 2) Lagunas y Zanjones de la costa del Río Paraná en Posadas Dep. Capital; 3) A° Zaimán en el Dep. Capital; 4) A° Garupá en el Dep. Capital; 5) Arroyito Destacamento de Prefectura Candelaria. 6) A° San Juan en el Dep. Candelaria; 7) Laguna del Puerto de Santa Ana en el Dep. Candelaria; 8) A° Tabay en el Dep. Libertador Gral San Martín. 9) Represa Cueva Mini próximo A° Piray Miní, en el Dep. Eldorado. 10) Lago de la Represa Uruguái en el Dep. Iguazú. 11) Laguna Salvinia Dep. San Javier; 12) Laguna Staquievik Dep. San Javier; 13) Laguna Itacaruaré Dep. San Javier; 14) Laguna Chaikouski Dep. Apóstoles; 15) Laguna Tarnousky Dep. Apóstoles

## 2. DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

Los moluscos planorbideos, *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835), *B. estraminea* (Dunker, 1848) y *B. glabrata* (Say 1818) son los principales transmisores de la esquistosomiasis mansónica en América del Sur (1).

En la Argentina no se han registrado casos autóctonos de esquistosomiasis, pero la Provincia de Misiones, presenta la mayor parte de su territorio limitando con Brasil, en donde ésta parasitosis se encuentra en franca expansión existiendo ya focos endémicos en los Estados de Paraná, Santa Catarina y Río Grande do Sul, limítrofes con la Región Mesopotámica de nuestro país.

Dicha región y otras tropicales de nuestro país, no sólo tienen el clima favorable para la transmisión de la esquistosomiasis, sino también las condiciones socio-económicas de la región pueden favorecer la propagación de la enfermedad.

La enfermedad se puede controlar por métodos quimioterapéuticos pero presentan inconvenientes tales como elevados costos y no evita la reinfección.

La Organización Mundial de la Salud ha priorizado el empleo de productos naturales molusquicidas para el control de la esquistosomiasis debido a su bajo costo y rápida biodegradabilidad (3).

Lemma, A. 1970 publicó un trabajo sobre las propiedades molusquicidas de *Phytolacca dodecandra* L'Herit con resultados prometedores; según este trabajo las distintas partes secas y molidas de *P. dodecandra* presentaban propiedades molusquicidas sobre varios caracoles entre ellos uno de *Biomphalaria pfeifferi ruppellii* (Dunker).

En la Argentina crece la especie *Phytolacca dioica* L y no se conocen trabajos sobre su efecto molusquicida sobre las especies de *Biomphalaria* nativas de Sudamérica, razón por la cual se decidió realizar estudios para determinar si los diferentes órganos hojas, ramas, flores masculina y femeninas de *Phytolacca dioica* L molidas en solución acuosa y el cocimiento a distintas concentraciones a una determinada temperatura en condiciones de laboratorio, tienen efecto molusquicida (propiedad-acción) sobre los diferentes estadios del ciclo biológico de *Biomphalaria tenagophila* hospedero intermediarios de la Esquistosomiasis.

sis mansonica en America del Sur, e integrantes de la fauna malacológica de nuestro país.

A tal efecto se realizaran ensayos que acorresponden a la primera etapa del estudio para la determinación del efecto molusquicida según lo indicado por la organización mundial de la salud (WHO) “Molusquicidas. Segundo informe del Comité de Expertos en Bilharzias Serie de Informes Técnicos” (56) y siguiendo la metodología establecida por Lemma 1970 (12) y WHO 1961 (56) con diferentes órganos hojas, ramas, flores masculina y femeninas de *Phytolacca dioica* L molidas en solución acuosa y el cocimiento a distintas concentraciones a una determinada temperatura en condiciones de laboratorio, sobre ejemplares de *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny 1835) colectados en la provincia de Misiones, criados en acuarios, sobre cuatro etapas del ciclo vital de los moluscos: adultos, juveniles, bionatos y huevos y se realizara algunas pruebas con algunos órganos de la planta sobre *Physa marmorata* Guilding 1828 nativos de la provincia cultivadas en acuarios para determinar su efecto molusquicida .

Correspondiendo a un ensayo en un microcosmos, determinándose el LD<sub>50</sub> y LD<sub>90</sub> en las cuatro etapas del ciclo vital de los moluscos (adultos, juveniles, bionatos y huevos).

### **3. ALCANCES**

La presente tesis doctoral pretende hacer un aporte significativo para resolver la grave problemática de salud generada por la esquistosomiasis mansónica que afecta a más de 200 millones de personas (17) en 78 países tropicales y subtropicales de África, Asia y América (18), determinando la capacidad molusquicida (propiedad- acción) de una especie nativa de Phytolacacea, *Phytolacca dioica* L sobre *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny 1835) unos de los principales hospedadores del *Schistosoma mansoni* Sambon 1907 en América del Sur , teniendo en cuenta los resultados obtenidos con *Phytolacca dodecandra* L'Hér, teniendo en cuenta las recomendaciones efectuadas por la Organización mundial de la Salud (WHO) en referencia a priorizar el usos de molusquicidas naturales en la lucha para el control de la Esquistosomiasis debido a su bajo costo y rápida biodegradabilidad (3).

## **4. VARIABLES EN ESTUDIO**

### **4.1. Cualitativas - Dependiente**

#### **4.1.1. Agentes molusquicidas**

Se evaluará en forma inédita la propiedad – acción molusquicida de *Phytolacca dioica* L en distintas concentraciones expresados en ppm, contra los diferentes estadios de ejemplares de *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835) de la Provincia de Misiones y como control cristales de Sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) a 30 ppm.

Se estudiará la propiedad – acción molusquicida en flores, ramas, hojas y frutos de *Phytolacca dioica* L contra los diferentes estadios de ejemplares *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835) en estado crudo y en cocimiento.

El efecto molusquicida será evaluado en función del número (porcentaje) de ejemplares muertos de la población de caracoles expuestos a las distintas concentraciones para determinar la dosis letal que mata al 50% y 90% respectivamente, expresado como LD<sub>50</sub> Y LD<sub>90</sub>.

Luego de probar distintas concentraciones de los diferentes órganos de *Phytolacca dioica* L, se seleccionarán los mejores promedios de letalidad WHO 1961 (56), comprendidos entre LD<sub>0</sub> y LD<sub>100</sub>, los que serán analizados con un programa estadístico que permitirá obtener las LD<sub>50</sub> y LD<sub>90</sub>.

### **Definición de cocimiento**

El cocimiento se usa para principios activos que no sufren alteraciones con la temperatura (19).

En este procedimiento se hierva la droga en agua por espacio de 15 a 60 minutos (según sea la planta o el principio activo a extraer), se enfría, se filtra y se añade suficiente agua fría la cocimiento hasta obtener el volumen deseado.

Dependiendo de la consistencia de las partes a extraer, se darán tiempos al cocimiento más o menos largos; generalmente, las raíces, hojas, flores y pedúnculos foliados se hierven en agua durante unos 15 minutos, mientras que las

ramas y otras partes más duras pueden precisar hasta una hora, tiempo durante el cual deberá ir reponiéndose el agua evaporada.

Una vez hecha el cocimiento se filtrará el líquido mediante un paño, extrayendo bien el líquido obtenido.

El cocimiento se preparan para ser utilizadas inmediatamente y no deben ser almacenadas por más de 24 horas. Popularmente se les conoce como cocimientos.

## **4.2. Cualitativas - Independiente**

### **4.2.1. Población objetivo**

*Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835) en cuatro estadios de su ciclo vital: huevos bionatos, juveniles y adultos y *Physa marmorata*: en los tratamientos aplicados con esta especie no se discriminaron estadios de desarrollo.

## **4.3. Cuantitativas - Dependiente**

### **4.3. 1. Concentraciones**

Se evaluará el efecto molusquicida de *Phytolacca dioica* L a distintas concentraciones a partir de 15 ppm y hasta 6000 ppm en los casos que lo requieran para obtener las LD<sub>0</sub>, LD<sub>50</sub>, LD<sub>90</sub> y LD<sub>100</sub>.

## **4.4. Cuantitativas – Independiente**

### **4.4.1. Evaluación de la toxicidad:**

Se realizará en base a la determinación de las dosis letales LD<sub>50</sub>, LD<sub>90</sub>, que mata al 50% y al 90% de los caracoles expuestos en cuatro etapas de su ciclo vital (adultos, juveniles, bionatos y huevos) respectivamente.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Recolección y procesamiento del material Vegetal

#### 5.1.1. Sitios de procedencia de *Phytolacca dioica* L.

Los diferentes órganos de la planta: hojas, ramas, flores y frutos utilizado en la presente tesis fueron colectados manualmente de ejemplares de *Phytolacca dioica* L. de la ciudad de Posadas de la Provincia de Misiones, (Barrio Villa Urquiza, Figura N° 32 y de la Costanera de dicha ciudad, los mismos fueron deshidratados a temperatura y humedad ambiente y posteriormente almacenadas Figura N° 33 al 37 (Ver pagina 56) en el laboratorio del Programa de Investigación de la Esquistosomiasis del Ministerio de Salud Pública de la Provincia de Misiones, para su posterior procesamiento; parte el material debidamente identificado fue puesto como material de resguardo en el Herbario de Farmacia (MNEF) de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales (FCEQyN) de la Universidad Nacional de Misiones (UNaM).



Figura N° 32 Colecta de hojas de *Phytolacca dioica*

**Autor: Roberto Enrique Stetson**



**Figura N° 33. Secado de hojas**



**34. Secado de flores femeninas**



**Figura N° 35. Desecado de frutos**



**Figura N° 36. Frutos secos**



**Figura N° 37 Ramas secas**



### 11.1.2. Procesado de los órganos de *Phytolacca dioica* L.

Los órganos deshidratados fueron molidos con una moledora eléctrica, posteriormente almacenadas en recipientes de vidrio con tapa a rosca, rotulados con la fecha de recolección y datos de procedencia. Figura N° 38.



Figura N° 38 Molido de flores de *Phytolacca dioica* L.

### 5.2. Origen de los moluscos que fueron utilizados en las pruebas de toxicidad.

Las pruebas de toxicidad se realizaron con ejemplares de *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835) linaje salvaje, procedentes de la laguna San Juan ubicado en el margen derecho del arroyo del mismo nombre y en el margen izquierdo de la Ruta Nacional N° 12, en inmediaciones del peaje de Santa Ana- departamento Candelaria de la provincia de Misiones; Latitud: -27.4167 Longitud: -55.7167. Figura N° 39 (Ver pagina 58) y con descendientes de los mismos, cultivados en el laboratorio por varias generaciones.

Autor: Roberto Enrique Stetson



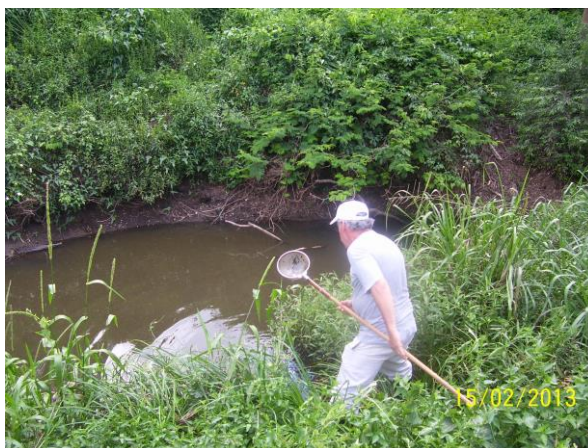
**Figura N° 39. Laguna San Juan**

La laguna presenta sustrato barroso, con abundante vegetación palustre, flotante y sumergida, entre las especies identificadas se encontraron *Pistia stratiotes* L. que es una especie del género monotípico *Pistia* de la familia Araceae conocida en la región como “repollito de agua”; *Echiornia crassipes* L. (camalote).

### **5.3. Forma de recolección y acondicionamiento de los moluscos.**

Luego de identificar los ejemplares por la forma de sus conchas fueron colectados con coladores de malla metálica de 30 cm de diámetro con 25 orificios de 2 mm por centímetro cuadrado, con mango de madera Figura N° 40 (Ver pagina 59) y se revisó el fondo hasta 10 cm. de profundidad, la vegetación palustre, sumergida y flotante, hasta un metro desde la orilla.

Autor: Roberto Enrique Stetson



**Figura N° 40. Colección de ejemplares con colador**

Los moluscos colectados fueron acondicionados en recipientes plásticos con papel absorbente humedecido, Figura N° 41 y transportados al laboratorio de Malacología del Programa de Esquistosomiasis (MSP) donde se procedió a la determinación taxonómica.



**Figura N° 41. Recipientes plásticos con papel absorbente humedecido**

#### **11.4. Identificación específica de los ejemplares**

Luego de la identificación conquiliológica, (caracteres taxonómicos de la concha), Figura N° 42 (Ver pagina 60) se realizó la microdisección del aparato reproductor a los efectos de su identificación específica, Figura N° 43 (Ver pagina 60) en ambos casos se utilizó una lupa estereoscópica binocular Will 8 con macro y micrómetro con zoom. Figura N° 44. (Ver pagina 60).

Autor: Roberto Enrique Stetson



Figura N° 42.



Figura N° 43.



Figura N° 44.

## 5.5. Cultivo de moluscos

Los caracoles utilizados en los ensayos fueron ejemplares de *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835), línea salvaje, mantenidos por varias generaciones en el laboratorio de Malacología del Programa de Investigación de la Esquistosomiasis del Ministerio de Salud Pública de la ciudad de Posadas, Provincia de Misiones, adaptados a las condiciones de laboratorio (temperatura de 20-25°C y régimen de iluminación natural).

Los moluscos fueron colocados en acuarios de distintos tamaños: en forma individual, en acuarios plásticos o de vidrio de 200 cm<sup>3</sup> o en acuarios de vidrio rectangular de 50 cm de largo x 40 de ancho y 40 de alto, con agua de canilla declorada y un nivel de 20 cm de profundidad, a la que se agregó tierra con calcio, para el aporte de nutrientes esenciales. Fueron alimentados *ad libitum* con hojas de lechuga. Figura N° 45 y 46 (Ver pagina 61).



Figura N° 45 Cultivo de *Biomphalaria tenagophila*

## 11.6. Mantenimiento de los acuarios

Cada acuario fue rotulado con el origen de los ejemplares y fecha de colección. El agua de los acuarios fue renovado semanalmente o cuando por algún efecto se volvía turbia; previamente a los recambios se limpiaron las paredes con cepillo para tubos de ensayo de distintos tamaños o espátulas de acuario; como desengrasante se utilizó jabón sólido neutro; posteriormente se enjuagaron los recipientes con agua de canilla y finalmente con agua declorada.



Figura N° 46 Vista del moluscario en los acuarios.

### 5.6.1. Decloración del agua

Para la decloración del agua se empleó recipientes de 5 o 20 litros, con agua de canilla proveniente del sistema de provisión de agua potable de la ciudad de Posadas. El agua fue mantenida en reposo por un período mínimo de 48 horas para la eliminación del cloro, de origen gaseoso.

Las propiedades físico- químicas del agua fue determinado por la Dirección de Industrias de la Provincia de Misiones. Tabla N° 3. (Ver pagina 62)

**Tabla N° 3 PROPIEDADES DE AGUA EMPLEADA EN LOS ENSAYOS**  
**Informe de la Dirección de Industrias de la Provincia de Misiones**  
**Análisis N° 15.112 – Expediente N° 043/10**

PROPIEDADES Y ELEMENTOS	VALORES
Turbiedad	NTU: 1,3
Color aparente (escala Pt-Co)	UC: incoloro
Olor	Sin olor extraño
pH (a 25 °C)	6,7
Aluminio (Al)	mg/l: menor de 0,07
Amoníaco (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )	mg/l: menor de 0,05
Arsénico (As)	mg/l: menor de 0,005
Cinc (Zn)	mg/l: 0,2
Cloruro (Cl <sup>-</sup> )	mg/l: 9.5
Cobre (Cu)	mg/l: menor de 0,05
Conductividad (a 25 °C)	μS/cm: 79,3
Cromo (Cr)	mg/l: menor de 0,005
Dureza total (CO <sub>3</sub> Ca)	mg/l: 30,0
Fluoruro (F)	mg/l: 0,07
Hierro total (Fe)	mg/l: 0,01
Manganeso (Mn)	mg/l: menor de 0,03
Nitrato (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	mg/l: menor de 10,0
Nitrito (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	mg/l: menor de 0,05
Solidos disueltos totales (a 105 °C)	mg/l: 75,15
Cloro activo residual (Cl)	mg/l: 0,0

### 5.6.2. Preparación de la tierra para cultivo

La tierra utilizada fue extraída de las áreas de campo próximas a donde se obtuvieron los ejemplares de *Biomphalaria tenagophila* (Laguna San Juan); fue colocada en bolsas plásticas y transportadas al laboratorio donde se acondicionaron en recipiente herméticos, previa esterilización a 60 °C por 24 horas en estufa de esterilización (Elibet de 50 °C a 300 °C), posteriormente molida en mortero de vidrio de tamaño mediano para reducirla a polvo, a lo que se adicionó conchas molidas de moluscos gasterópodos del género *Biomphalaria*, *Asolene* (d'Orbigny, 1838) y de bivalvos del género *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) y otros géneros de la familia *Unionidae*. Ambos productos fueron mezclados en



una proporción de 3:1, hasta lograr una mezcla homogénea y fueron conservados en recipientes plásticos hasta su utilización.

La tierra colorada de Misiones o Yvy Pytã en Guaraní, clasificada en el Soil Taxonomy, en el orden de los oxisoles, se ha caracterizado por ser el resultado de la descomposición de rocas de origen arenito-basáltico (derrames volcánicos). Su principal característica es su color colorado, debido a la presencia de laterita, con alta concentración de hierro (III) y óxidos e hidróxidos de aluminio. Además contienen cuarzo y arcilla caolinita, más pequeñas cantidades de otros minerales de arcilla y de materia orgánica (58) esto permitió aportar suficiente hierro al medio de cultivo.

### **5.6.3. Preparación del alimento**

El alimento consistió en hojas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) preferentemente las variedades repollada o común (lechuga de hoja o criolla), de distintas procedencias según la época del año.

Las hojas fueron separadas de la planta y puestas a deshidratar a temperatura ambiente en el laboratorio, temperatura promedio de entre 20° y 27° C, sobre papel neutro común; posteriormente acondicionadas en recipientes de vidrio.

### **5.7. Determinación del tamaño de los ejemplares**

Para registrar el tamaño de los ejemplares utilizados en los ensayos, se determinó el diámetro mayor de la concha (DM), confeccionándose una plantilla de cartón plastificado con círculos de diferentes diámetros comprendidos entre los 1 mm y 34 mm (16).

Los ejemplares utilizados para los ensayos fueron categorizados en adultos, juveniles y bionatos.

Para la determinación de los ejemplares adultos se consideró el tamaño en que comenzaron a desovar huevos fértiles, esto fue obtenido en estudios previos y se concluyó que lo hacen a partir de los 10 mm de diámetro mayor de las conchas, aunque el tamaño máximo puede alcanzar los 16 mm.

Por lo tanto se define como adulto a los ejemplares de 10 mm (DM) a más teniendo en cuenta que a partir de este tamaño comienzan a poner huevos fértiles; juveniles de 7 - 8 mm (DM), y bionatos a individuos de entre 3-5 mm (DM).

Durante los ensayos se utilizaron caracoles adultos, juveniles y bionatos, de similar tamaño en el diámetro mayor de la concha (DM); como así también huevos provenientes de la misma población.

El tamaño de los ejemplares para los ensayos se determinó a través de una tarjeta con círculos de distintos tamaños en forma ascendente. Figura N° 54.

### **5.8. Bioensayos para la determinación de la propiedades molusquicidas de los distintos órganos de *Phytolacca dioica* L.**

Se aplicó la metodología establecida por Lemma 1970 (12) y WHO 1961 (56) sobre ejemplares de *Biomphalaria tenagophila* (en cuatro etapas del ciclo vital de los moluscos: adultos, juveniles, bionatos y huevos).

Los ensayos realizados corresponden a la primera etapa del estudio para la determinación del efecto molusquicida según lo indicado en la literatura. (107) Correspondiendo a un ensayo en un microcosmos, determinándose el LD<sub>50</sub> y LD<sub>90</sub> en las cuatro etapas del ciclo vital de los moluscos (adultos, juveniles, bionatos y huevos).

Para determinar del LD<sub>50</sub> y LD<sub>90</sub> se utilizó análisis estadístico Dosis-mortalidad para el análisis biométrico y de bioensayo, técnicas de rutina utilizadas en este campo. Los resultados de dichos análisis se representarán gráficamente (57).

#### **5.8.1. Preparación de las soluciones de pruebas como molusquicida.**

Se realizaron tres tipos de ensayos con frutos, hojas, ramas y flores de *Phytolacca dioica* para la determinación de la acción molusquicida.

- 1)- Con frutos, hojas, ramas y flores en estado crudo (sin cocimiento).
- 2)- Cocimiento de frutos, hojas, ramas y flores.
- 3)- Con cristales de Sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>) a 30 ppm como control.



#### **5.8.1.1. Ensayos con frutos, hojas, ramas y flores de *Phytolacca dioica* L. en estado crudo (sin cocimiento).**

Con los frutos, hojas, ramas y flores *Phytolacca dioica* L. molidos se prepararon soluciones de 10 ppm; 50 ppm; 100 ppm; 150 ppm; 200 ppm; 600 ppm; 700 ppm y 800 ppm, utilizando como disolvente estándar, agua de red del servicio de agua potable de la ciudad de Posadas declorada por 24 h., la misma que se utilizó para cultivar los ejemplares de ensayo.

Las mezclas fueron agitadas con una espátula de acero y se dejaron reposar por 24 y 48 horas, a temperatura ambiente, posteriormente filtradas con papel de filtro.

También se realizaron ensayos con triturado de hoja, frutos, ramas y flores crudas en soluciones directas sin filtrar y sin reposo de 24 horas y ensayos con hojas enteras sumergidas en agua durante 24 y 48 horas.

#### **5.8.1.2. Pruebas con cocimiento de frutos, hojas, ramas y flores de *Phytolacca dioica* L.**

El cocimiento se realizó con diferentes peso del triturado de los frutos, hojas, ramas y flores de *Phytolacca dioica* L. deshidratadas en un litro de agua declorada, a fuego fuerte (máximo) hasta romper el hervor y luego a fuego lento (Mínimo) en un cocina- anafe por 20 minutos, se dejó enfriar y se filtró el soluto con una tela de nylon y un embudo, luego se extrajo todo el agua posible y a la solución obtenida se le adicionó agua declorada hasta completar un litro de solución y obtener los ppm deseados.

#### **5.8.2. Ensayos de la acción molusquicida**

Se tomó 400 ml. del molusquicida con los diferentes ppm del cocimiento sin realizar diluciones y se introdujeron en cada uno de los frascos de prueba 5 ejemplares de *B. tenagophila* adultos, juveniles, bionatos y huevos; del mismo modo se colocó 400 ml de agua declorada con el mismo número de moluscos a los frascos testigos.

Autor: Roberto Enrique Stetson

Los ensayos se realizaron en recipientes de vidrio de forma y tamaños similares.

Los recipientes fueron colocados en baño termostático a temperaturas que oscilaron entre los 27° y 28 °C por 24 horas, cubiertos con placas de acrílico perforado o con trozos de gasa para evitar la salida de los ejemplares hacia el exterior. Figura N° 47.

Los moluscos recibieron alimento (lechuga deshidratada) durante este periodo y estuvieron expuestos a luz natural.



**Figura N° 47. Frascos de prueba y testigos en baños termostático a temperatura constante**

Los resultados fueron volcados a tablas confeccionadas al efecto y posteriormente analizados estadísticamente con Probit Sokal y Rohlf, 1973 (108), programa especialmente diseñado para este tipo de análisis, que permite obtener los valores de LD<sub>50</sub> y LD<sub>90</sub>.

### **5.8.3. Número de replicaciones de cada prueba de concentraciones, exposiciones y período de recuperación en cada prueba.**

El número de replicaciones en cada prueba fue de cuatro y en cada caso se expusieron el mismo número de ejemplares criados en laboratorio, elegidos al azar, de aproximadamente el mismo tamaño y misma procedencia.

Se emplearon también cuatro recipientes testigos del mismo tamaño para las pruebas, con igual volumen de agua declorada utilizada para los cultivos y con el mismo número de ejemplares de moluscos elegidos al azar.

Los moluscos fueron expuestos al molusquicida por un periodo de 24 horas y finalizado el mismo, los sobrevivientes fueron colocados en un colador y

Autor: Roberto Enrique Stetson

lavados 5 veces con 400 cc de agua declorada Figura N° 48 y sometidos a un periodo de recuperación de 24 horas donde se les proveyó alimento.



**Figura N° 48. Lavado de los moluscos luego de la exposición al molusquicida**

#### **5.8.4. Control de la temperatura de ensayo**

A los efectos de asegurar una temperatura constante durante los ensayos se utilizó un baño termostático (BT) Viking SRA, de corriente alterna, modelo Samy, con cuba de acrílico de 9 cm de ancho, 12 de largo y 5 de alto, conteniendo agua de canilla.

Se fijó la temperatura en 27 °C, permitiéndose una variación de no más de 3° C. Los recipientes de ensayos fueron sumergidos, hasta el nivel del volumen de prueba 400 cc.

Los ensayos se iniciaron cuando se alcanzaba la temperatura deseada, tanto en el BT como en los recipientes de ensayos.

#### **5.8.5. Comparación de las propiedades molusquicidas de los diferentes órganos de *Phytolacca dioica* L.**

Se realizó una evaluación comparativa del potencial molusquicida de las distintas partes de la planta (frutos, ramas, hojas y flores) a los efectos de determinar la parte más activa, luego del secado y triturado. Los resultados obtenidos fueron volcados a tablas.

### **5.8.6. Comparación de la toxicidad de *Phytolacca dioica* L., para huevos de *B. tenagophila*.**

Lotes de 10 – 20 huevos de *B. tenagophila* de diferentes estadios de desarrollo fueron expuestos por 24 horas, a diferentes concentraciones a efectos de determinar la LD<sub>50</sub> y LD<sub>90</sub>.

### **5.8.7. Comparación de la toxicidad con otro molusquicida**

Siguiendo lo propuesto por la Lema 1970 (12), se realizaron ensayos de toxicidad con una solución de 30 ppm de cristales de sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>) en agua de canilla declorada.

## **5.9. El análisis estadístico para la determinación del LD<sub>50</sub> y el LD<sub>90</sub>**

Curvas Dosis-mortalidad son la materia objeto de todo un campo de análisis biométrico y bioensayo, constituyendo una de las técnicas utilizadas en este campo. Los resultados de dicho análisis se representan gráficamente.

Una línea de regresión es ajustada a los datos de mortalidad Sokal y Rohlf, 1973 (108). Para el presente estudio los datos se calcularon utilizando un programa especialmente diseñado para este tipo de análisis.

El análisis de regresión de los datos obtenidos son los siguientes:

En primer lugar, la ecuación de la regresión:  $Y = a + bx$ , donde:

Y = (calculado) probar esperado

a = la intersección de la línea de regresión con el eje vertical cuando X es igual a cero.

b = es la tangente de la línea de regresión hecho con el eje horizontal.

X = la concentración que produce probit Y.

En segundo lugar, el error estándar de X - coeficiente (SE-X)

En tercer lugar, el error estándar del coeficiente de Y-(SE-Y)

En cuarto lugar, el coeficiente de regresión ( $r^2$ )

Los datos obtenidos fueron presentados en forma de tablas en términos de concentración, concentración, la mortalidad y porcentaje de mortalidad y probit (tabulados y calculados). Cada tabla contenía las siguientes estadísticas "La ecuación de la recta de regresión, (SE-X), (SE-Y)", la concentración letal que

Autor: Roberto Enrique Stetson

mata al 50% de la población de caracol ( $LD_{50}$ ), la concentración letal que mata 90 % de la población de caracol ( $LD_{90}$ ) y ( $R^2$ ) (Coeficiente de determinación) para mostrar el grado de homogeneidad entre la concentración de la muestra de la planta y la mortalidad de los caracoles (Finney, 1936 (59); WHO 1965 (16) y Busvine, 1971 (60)).

## 6. RESULTADOS

### 6.1. Relevamiento de ejemplares de *Phytolacca dioica* L. en la ciudad de Posadas y otras localidades de la Provincia y la Región.

Luego de realizar el relevamiento de especies de *Phytolacca dioica* L en la ciudad de Posadas se pudo constatar que los resultados obtenidos son inéditos ya que no existe informe de su presencia en la bibliografía relevada.

Los ejemplares encontrados fueron: Tabla N° 4

**Tabla N° 4. Sitios donde se localizaron los ejemplares de *Phytolacca dioica* L**

Sitios en las que se encontró <i>Phytolacca dioica</i> L	Ubicación georreferenciada
1- Barrio Villa Urquiza. Propiedad privada. Avenida López Torres y Av. Maipú.	27°23'18"S 55°53'35"O
2- Jardín Botánico "Alberto Roth" Av. Tierra del Fuego, López Torres y Balcarce.	27°24'28"S 55°53'46"O
3- Zona de la Planta potabilizadora de agua- SAMSA-Sargento Barrufaldi y Bermúdez.	27°22'30"S 55°54'13"O
4- Costanera de la ciudad de Posadas-Lateral derecho del Anfiteatro Antonio Ramírez. Calle Roque González y Av. Sargento Cabral.	27°21'14" S, 55°53'38" O
5- Costanera de la ciudad de Posadas. Lateral izquierdo Anfiteatro Antonio Ramírez. Av. Sargento Cabral (1ejemplar femenino y 1 masculino.	27°21'12" S, 55°53'38" O
6- Costanera de la ciudad de Posadas y General Frías.	27°21'27"S 55°53'28"O
7- Barrio Nemesio Parma. Destacamento de Prefectura Naval Argentina.	Log. 56° 00'21'' Lat. 27°21'13''O
8- Provincia de Corrientes. Rincón Ombú Chico. Ubicado en zona entre la Ciudad de Ituzaingó (Ctes.) y Posadas (Misiones).	27°24'41"S 56°15'40"O
9- Según referencias Apóstoles, Cainguás, El Dorado (Provincia de Misiones).	No se registra la ubicación exacta

Autor: Roberto Enrique Stetson

*Recolección y almacenamientos de hojas, ramas, flores y frutos de Phytolacca dioica L.*

Las hojas, ramas, flores y frutos de *Phytolacca dioica* L. utilizadas para los ensayos fueron en su mayoría recolectadas de dos ejemplares masculino y femenino ubicados en la costanera de la ciudad de Posadas.

A diferencia a lo descrito en la literatura (23), que relata que *Phytolacca dioica* florece en verano y fructifica en invierno, en la ciudad de Posadas (Misiones) se pudo recoger flores y frutos durante los periodos de otoño (Junio y julio) y verano (noviembre y diciembre). Figuras 68 a y b, 69 y 70 (Ver pagina 72).

Se observó que la pérdida de las hojas no fue total y se produjo en otoño.



**Figura 68.a. P. dioica L. Pie femenino**



**Figura 68.b Pie masculino**



**Figura 69.a Frutos (junio de 2010).**

Autor: Roberto Enrique Stetson



Figura 70. Flores femeninas recolectadas en el mes de noviembre 2011

## **6.2. Obtención de triturado de hojas y ramas, frutos y flores de *Phytolacca dioica* L**

Las hojas se secan rápidamente al sol o expuestas a temperatura ambiente y son fáciles de moler. Se desprenden naturalmente con mucha facilidad del tronco y es habitual encontrar ramas foliares desprendidas en el suelo.

Las ramas gruesas secas conformados por capas concéntricas de corteza se desprenden fácilmente, pero las ramas de diámetros de 1 centímetro deben ser rebanados con cuchillo u otro instrumento filoso para poder finalmente molerlo.

Las flores femeninas no siempre están disponibles, ya sea porque fructifican rápidamente o se encuentran a gran altura; estos árboles pueden alcanzar fácilmente alturas de más de 4 metros.

Los frutos para poder ser molidos a polvo, deben ser verdes o amarillos no totalmente maduros, ya que en estas condiciones se obtiene una consistencia pastosa o gelatinosa con apariencia de pasas de uvas.

Las frutas no son comidas por insectos ni atraen mariposas a pesar de despedir un agradable y dulce aroma a uva o higo deshidratado.



### **6.3. Ensayos con frutos, hojas, ramas y flores de *Phytolacca dioica* en estado crudo (sin cocimiento).**

#### **6.3.1. Ensayos con hojas trituradas en estado crudo (sin cocimiento) con individuos adultos de *Biomphalaria tenagophila*.**

Se realizaron ensayos con hojas a 10, 15, 500, 600, 700, 1000, 1500, 2000 y 2500 ppm con individuos adultos de *Biomphalaria tenagophila*, según la metodología establecida por Lemma 1970 (12) y WHO 1961 (56). Los resultados fueron negativos LD<sub>0</sub>.

#### **6.3.2. Ensayos con hojas trituradas en crudo (sin cocimiento) con huevos.**

Se realizaron ensayos con hojas a 10, 15, 1000, 1500, 2000 y 2500 ppm con huevos de *Biomphalaria tenagophila* (Figura 72), según la metodología establecida por Lemma 1970 (12) y WHO 1961 (56) y los resultados fueron negativos LD<sub>0</sub>.

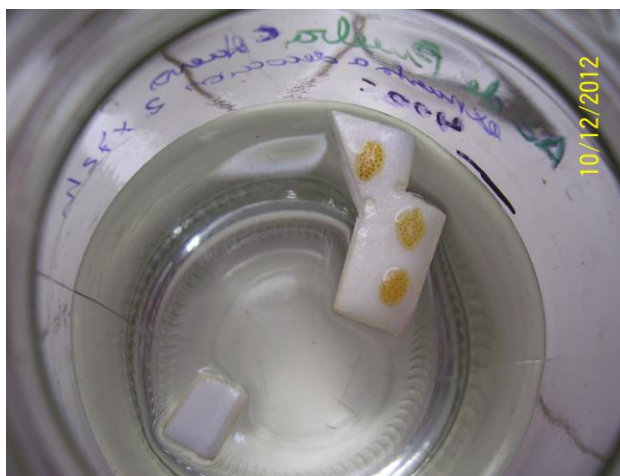


Figura 71. Colonias de huevos utilizados para los ensayos

#### **6.3.3. Ensayos con hojas trituradas en crudo (sin cocimiento) con individuos juveniles.**

10 ppm; 50 ppm; 100 ppm; 150 ppm; 200 ppm; 600 ppm; 700 ppm y 800 ppm,

Se realizaron ensayos con hojas a 10 ppm; 50 ppm; 100 ppm; 150 ppm; 200 ppm; 600 ppm; 700 ppm y 800 ppm, con individuos juveniles, según la me-

todoología establecida por Lemma 1970 (12) y WHO 1961 (56) sobre ejemplares de *Biomphalaria tenagophila* y los resultados fueron negativos, LD<sub>0</sub>.

#### **6.3.4. Ensayos con hojas trituradas en crudo (sin cocimiento) con bionatos.**

Se realizaron ensayos con hojas a 10 ppm; 50 ppm; 100 ppm; 150 ppm; 200 ppm; 600 ppm; 700 ppm y 800 ppm con juveniles de *Biomphalaria tenagophila*, según la metodología establecida por Lemma 1970 (12) y WHO 1961 (56) y los resultados fueron negativos, LD<sub>0</sub>.

#### **6.3.5. Ensayos con hojas enteras en crudo (sin cocimiento) con individuos adultos.**

Se realizaron ensayos con hojas a 10 ppm; 50 ppm; 100 ppm; 150 ppm; 200 ppm; 600 ppm; 700 ppm y 800 ppm con individuos adultos de *Biomphalaria tenagophila* y los resultados fueron negativos LD<sub>0</sub>.

#### **6.3.6. Ensayos con ramas trituradas en crudo (sin cocimiento) con adultos juveniles, huevos y bionatos.**

Se realizaron ensayos con hojas a 10 ppm; 50 ppm; 100 ppm; 150 ppm; 200 ppm; 600 ppm; 700 ppm y 800 ppm con juveniles según la metodología establecida por Lemma 1970 (12) y WHO (1961 (56) sobre ejemplares de *Biomphalaria tenagophila* y los resultados fueron negativos, LD<sub>0</sub>.

#### **6.3.7. Ensayos con flores femeninas en crudo (sin cocimiento) con adultos y huevos**

Se realizaron ensayos con flores femeninas a 10 ppm; 50 ppm; 100 ppm; 150 ppm; 200 ppm; 600 ppm; 700 ppm y 800 ppm con juveniles según la metodología establecida por Lemma 1970 (12) y WHO 1961 (56) sobre ejemplares de *Biomphalaria tenagophila* y los resultados fueron negativos LD<sub>0</sub>

#### **6.4. Cocimiento del triturado de hojas y ramas, frutos y flores de *Phytolacca dioica* L y determinación de la acción molusquicida**

Luego de probar distintas concentraciones de los distintos órganos de *Phytolacca dioica* L, seleccionaron los mejores promedios WHO 1961 (56), comprendi-

dos entre LD<sub>0</sub> y LD<sub>100</sub> los que luego de ser analizados con el programa estadístico Probit que permitió obtener los LD<sub>50</sub> Y LD<sub>90</sub>.

#### **6.4.1. Efecto molusquicida del cocimiento de Hojas trituradas de *Phytolacca dioica* L. según concentraciones en ppm, sobre ejemplares Adultos de *Biomphalaria tenagophila*.**

Los resultados de las experiencias demostraron que las concentraciones letales que eliminaron al 50 y 90 % de *Biomphalaria tenagophila* adultas (LD<sub>50</sub> y LD<sub>90</sub>), cuando fueron expuestos al cocimiento de hoja, durante 24 horas, fueron 1217 y 1757 ppm respectivamente. Tabla N° 5 y Gráfico N° 1.

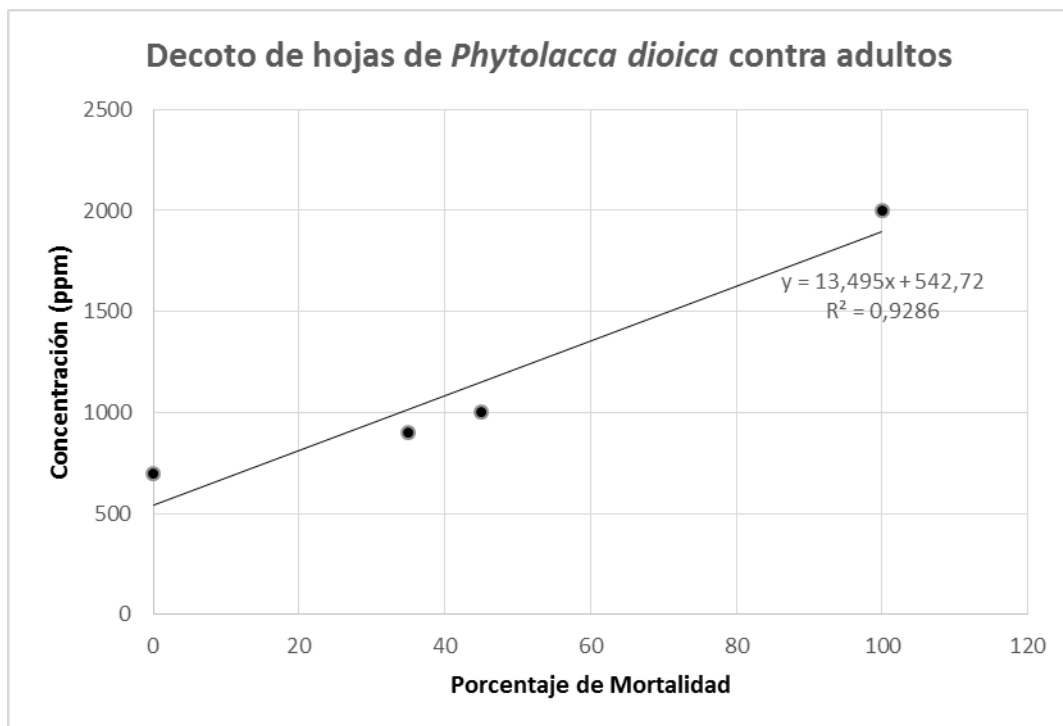
**Tabla N° 5 Aplicación del cocimiento de hojas trituradas de *Phytolacca dioica* L. como agente molusquicida sobre caracoles Adultos de *Biomphalaria tenagophila*.**

Cocimiento de hojas de <i>Phytolacca dioica</i> en Adultos		
%	Concentración (ppm)	Reg. Calculado
100	2000	1892
45	1000	1031
35	900	914
0	700	504
0	Control	

$$LD_{50} = 1217 \quad LD_{90} = 1757 \quad LD_{100} = 1892$$

Autor: Roberto Enrique Stetson

Gráfico N° 1 Aplicación del cocimiento de hojas trituradas de *Phytolacca dioica* como agente molusquicida contra caracoles Adultos de *Biomphalaria tenagophila*



#### 6.4.2. Efecto molusquicida del cocimiento de Hoja triturada de *Phytolacca dioica* según concentraciones en ppm contra ejemplares Juveniles de *Biomphalaria tenagophila*

Los resultados mostraron que las concentraciones letales que mataron al 50 y 90 % de ejemplares juveniles de *Biomphalaria tenagophila* fue ( $LD_{50} = 1327$  y  $LD_{90} = 2052$ ), expuestos al cocimiento de hojas durante 24 horas. Tabla N° 6 y Gráfico N° 2.

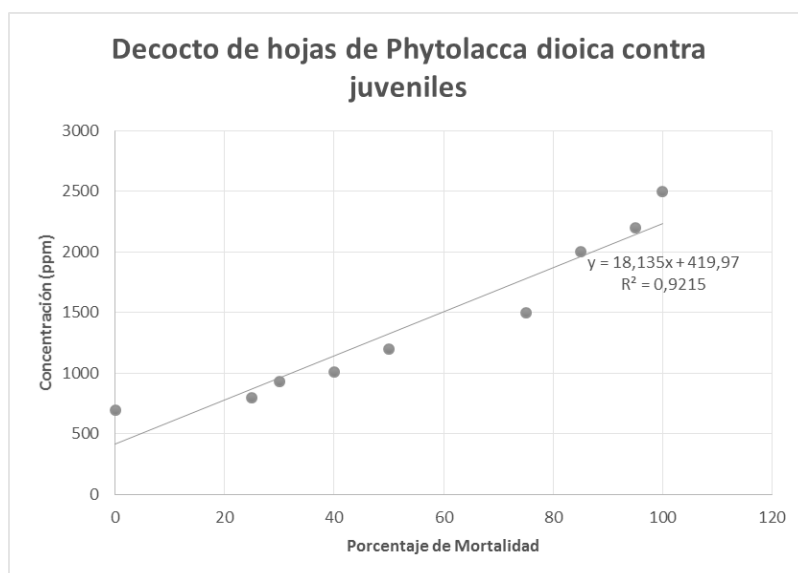
**Autor: Roberto Enrique Stetson**

**Tabla N° 6. Aplicación del cocimiento de Hojas trituradas de *Phytolacca dioica* como agente molusquicida contra ejemplares Juveniles de *Biomphalaria tenagophila***

Coccimiento de hojas de <i>Phytolacca dioica</i> L. contra Juveniles		
Mortalidad %	Concentración (ppm)	Reg. Calculado
100	2500	2233
95	2200	2143
85	2000	1961
75	1500	1780
50	1200	1327
40	1013	1145
30	934,2	964
25	800	873
0	700	420
0	Control	

$$LD_{50} = 1327 \quad LD_{90} = 2052 \quad LD_{100} = 2233$$

**Gráfico N° 2 Aplicación del cocimiento de hojas trituradas de *Phytolacca dioica* como agente molusquicida contra ejemplares Juveniles de *Biomphalaria tenagophila***



Autor: Roberto Enrique Stetson

### 6.4.3. Efecto molusquicida del cocimiento de Hoja triturada de *Phytolacca dioica* L. según concentraciones en ppm contra Bionatos de *Biomphalaria tenagophila*

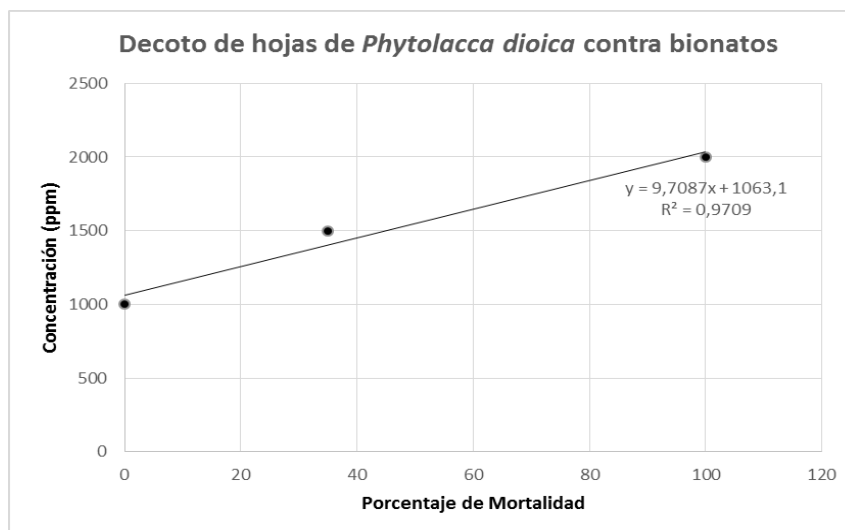
Los resultados mostraron que las concentraciones letales que mataron al 50 y 90 % de *Biomphalaria tenagophila* en bionatos (recientemente nacidos) LD<sub>50</sub>=1549 y LD<sub>90</sub>=1937, cuando fueron expuestos al cocimiento de hoja durante 24 horas. Tabla N° 7 y Gráfico N° 3.

Tabla N° 7. Aplicación del cocimiento de hojas trituradas de *Phytolacca dioica* como agente molusquicida contra Bionatos de *Biomphalaria tenagophila*.

Cocimiento de hojas de <i>Phytolacca dioica</i> contra Bionatos		
Mortalidad %	Concentración (ppm)	Reg. Calculado
100	2000	2034
35	1500	1475
0	1000	1147
0	Control	

$$LD_{50} = 1549 \quad LD_{90} = 1937 \quad LD_{100} = 2034$$

Gráfico N°3. Aplicación del cocimiento de hojas trituradas de *Phytolacca dioica* como agente molusquicida contra Bionatos de *Biomphalaria tenagophila*.



#### **6.4.4. Efecto molusquicida del cocimiento de Hoja triturada de *Phytolacca dioica* L. según concentraciones en ppm contra Huevos de *Biomphalaria tenagophila***

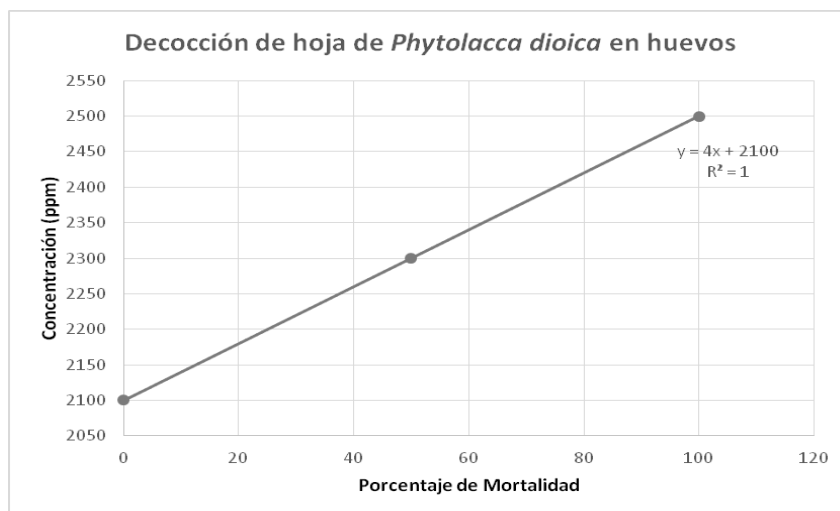
Los resultados mostraron que las concentraciones letales que mataron al 50 y 90 % de huevos de *Biomphalaria tenagophila* (LD<sub>50</sub> y LD<sub>90</sub>) cuando fueron expuestos al cocimiento de hoja durante 24 horas, fueron 2300 y 2460 ppm respectivamente, este último valor se obtuvo solamente por cálculos estadísticos debido a la gran cantidad de soluto requerido para obtener la solución molusquicida. (Tabla N° 8 y Gráfico N° 4).

**Tabla N° 8. Aplicación del cocimiento de hojas trituradas de *Phytolacca dioica* como agente molusquicida contra huevos de *Biomphalaria tenagophila***

Cocimiento de hojas de <i>Phytolacca dioica</i> contra Huevos		
Mortalidad %	Concentración (ppm)	Reg. Calculado
100	2500	2500
50	2300	2300
0	2100	2100
0	Control	

$$LD_{50} = 2300 \quad LD_{90} = 2460 \quad LD_{100} = 2500$$

**Gráfico N° 4. Aplicación del cocimiento de hojas trituradas de *Phytolacca dioica* como agente molusquicida contra huevos de *Biomphalaria tenagophila*.**



#### **6.4.5. Efecto molusquicida del cocimiento de Frutos molidos de *Phytolacca dioica* según concentraciones en ppm sobre ejemplares Adultos de *Biomphalaria tenagophila***

Los resultados mostraron que las concentraciones letales que mataron al 50 y 90 % de *Biomphalaria tenagophila* adultos (LD<sub>50</sub> y LD<sub>90</sub>) cuando fueron expuestos al cocimiento de frutos durante 24 horas fueron 2452 ppm y 3893 ppm respectivamente. Tabla N° 10 y Gráfico N° 5.

**Tabla N° 10. Aplicación del cocimiento de frutos molidos de *Phytolacca dioica* como agente molusquicida contra ejemplares Adultos de *Biomphalaria tenagophila*.**

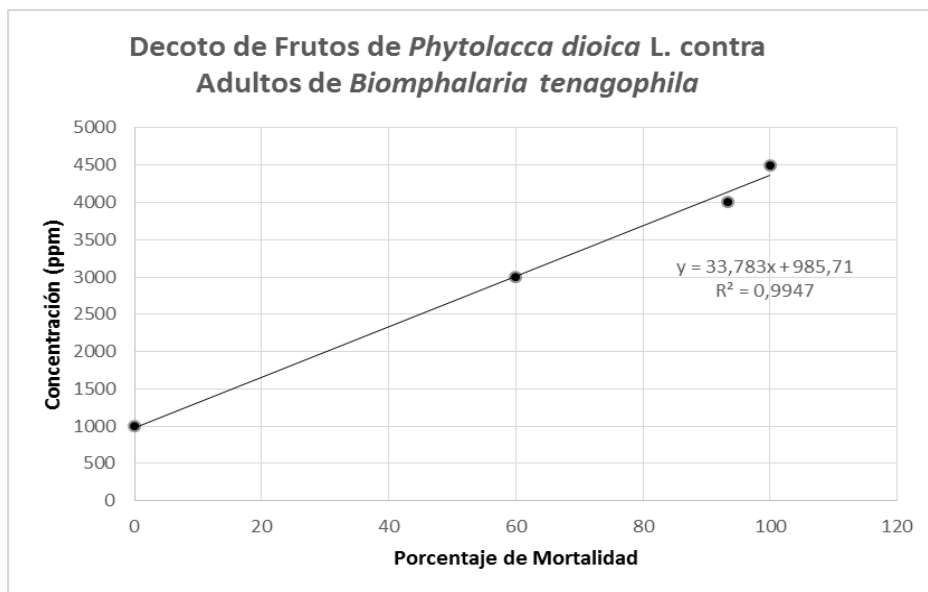
Cocimiento de frutos de <i>Phytolacca dioica</i> contra Adultos		
Mortalidad %	Concentración (ppm)	Reg. Calculado
100	4500	4254
93,3	4000	4012
60	3000	2812
0	1000	650
0	Control	

$$LD_{50} = 2452 \quad LD_{90} = 3893 \quad LD_{100} = 4254$$

**Gráfico N° 5. Aplicación del cocimiento de frutos molidos de *Phytolacca dioica* como agente molusquicida contra caracoles Adultos de *Biomphalaria tenagophila*.**



**Autor: Roberto Enrique Stetson**



#### **6.4.6. Efecto molusquicida del cocimiento de Frutos molidos de *Phytolacca dioica* L. según concentraciones en ppm contra ejemplares Juveniles de *Biomphalaria tenagophila***

Los resultados mostraron que las concentraciones letales que mataron al 50 y 90 % de *Biomphalaria tenagophila* juveniles LD<sub>50</sub> y LD<sub>90</sub>, cuando fueron expuestos la cocimiento de frutos durante 24 horas fueron 2215 ppm y 3773 ppm respectivamente (Tabla N° 9 y Gráfico N° 6).

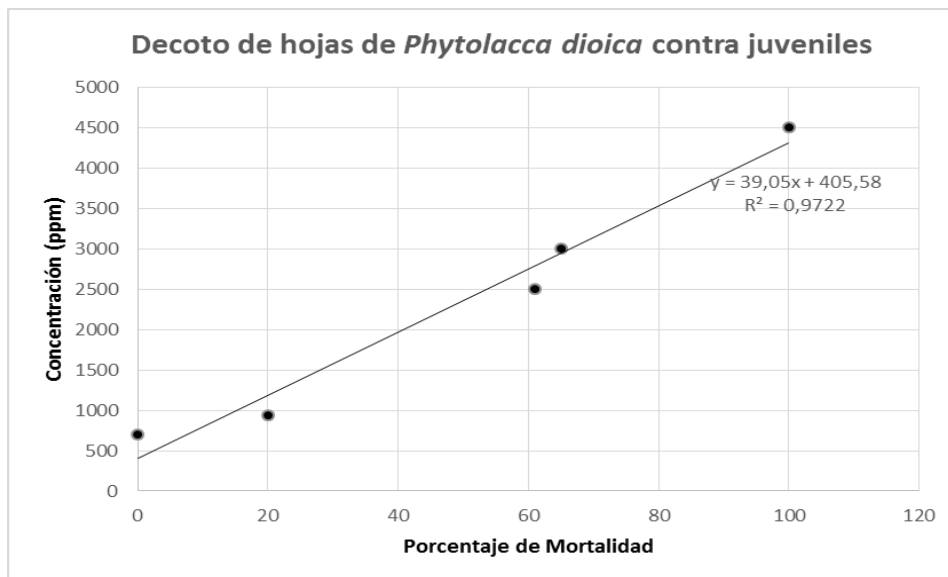
**Tabla No 9. Aplicación del cocimiento de frutos molidos de *Phytolacca dioica* como agente molusquicida contra caracoles Juveniles de *Biomphalaria tenagophila*.**

Cocimiento de frutos de <i>Phytolacca dioica</i> contra Juveniles		
Mortalidad %	Concentración (ppm)	Reg. Calculado
100	4500	4163
65	3000	2799
61	2500	2644
20	934,2	1046
0	700	267
0	Control	

$$LD_{50} = 2215 \quad LD_{90} = 3773 \quad LD_{100} = 4163$$

Autor: Roberto Enrique Stetson

Gráfico N° 6. Aplicación del cocimiento de frutos molidos de *Phytolacca dioica* como agente molusquicida contra caracoles Juveniles de *Biomphalaria tenagophila*



#### 6.4.7. Efecto molusquicida del cocimiento de Frutos molidos de *Phytolacca dioica* según concentraciones en ppm contra Bionatos de *Biomphalaria tenagophila*

Los resultados mostraron que las concentraciones letales que mataron al 50 y 90 % de *Biomphalaria tenagophila* recientemente nacidos LD<sub>50</sub> y LD<sub>90</sub> cuando fueron expuestos al cocimiento de frutos durante 24 horas fueron 2071 ppm y 3335 ppm respectivamente. Tabla N° 10 y Gráfico N° 7.

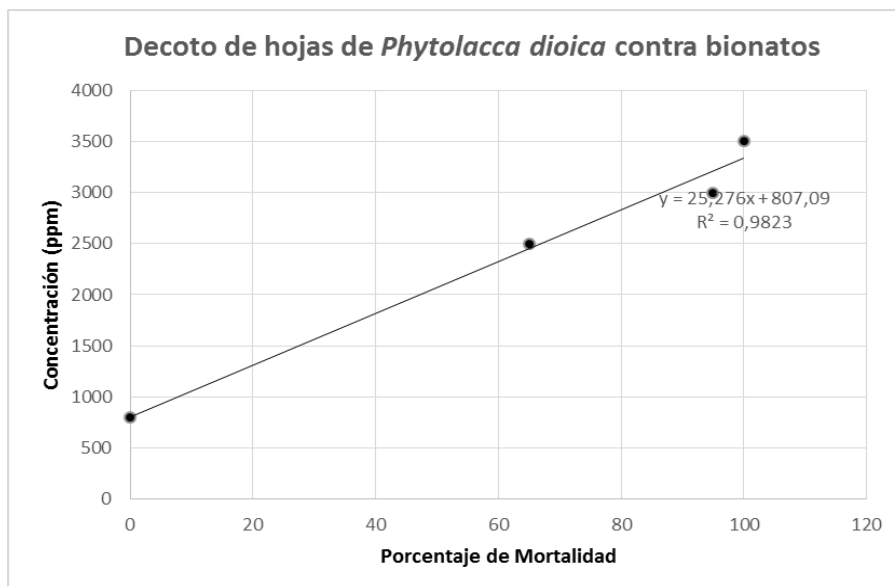
Tabla N° 10. Aplicación del cocimiento de frutos molidos de *Phytolacca dioica* como agente molusquicida contra bionatos de *Biomphalaria tenagophila*.

Cocimiento de frutos de <i>Phytolacca dioica</i> contra Bionatos		
Mortalidad %	Concentración (ppm)	Reg. Calculado
100	3500	3240
95	3000	3099
65	2500	2251
0	800	414
0	Control	

$$LD_{50} = 2071 \quad LD_{90} = 3335 \quad DL_{100} = 3230$$

Autor: Roberto Enrique Stetson

Gráfico N° 7. Aplicación del cocimiento de frutos molidos de *Phytolacca dioica* como agente molusquicida contra Bionatos de *Biomphalaria tenagophila*.



#### 6.4.8. Efecto molusquicida del cocimiento de Frutos molidos de *Phytolacca dioica* según concentraciones en ppm sobre Huevos de *Biomphalaria tenagophila*

Los resultados mostraron que las concentraciones letales que mataron al 50 y 90 % de los huevos de *Biomphalaria tenagophila* LD<sub>50</sub> y LD<sub>90</sub> cuando fueron expuestos al cocimiento de frutos durante 24 horas fueron: 1913 ppm y 2789 ppm respectivamente. (Tabla N° 11 y Gráfico N° 8).

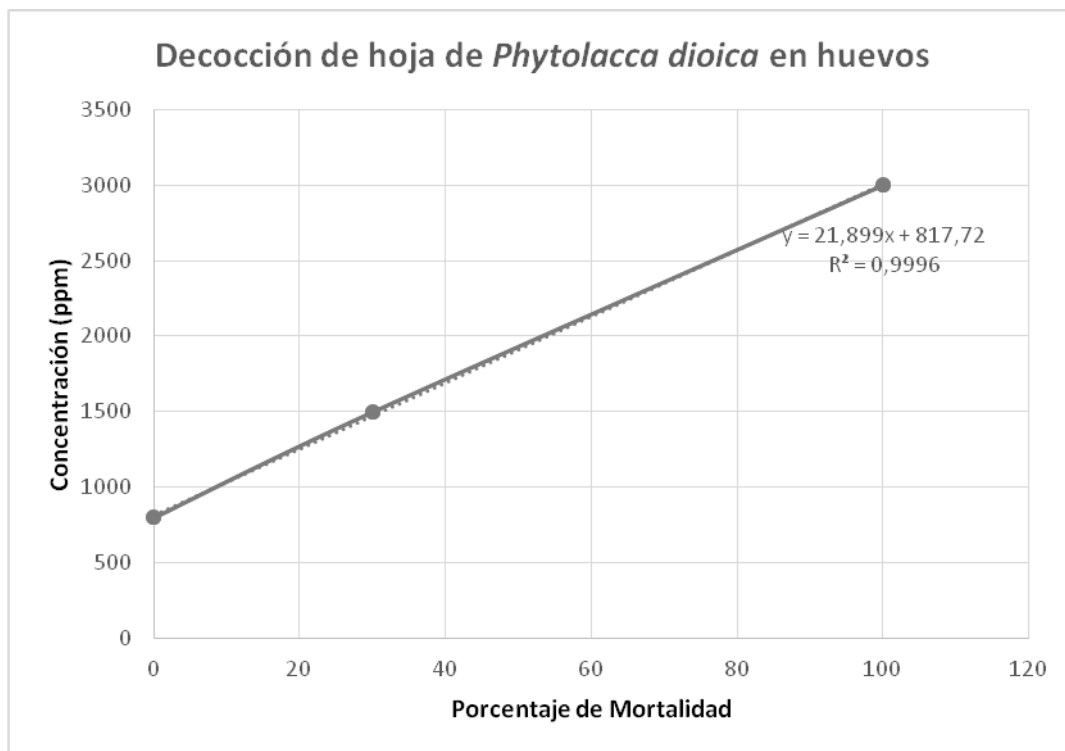
Tabla N° 11. Aplicación del cocimiento de frutos molidos de *Phytolacca dioica* como agente molusquicida contra huevos de *Biomphalaria tenagophila*.

Cocimiento de frutos de <i>Phytolacca dioica</i> contra huevos		
Mortalidad %	Concentración (ppm)	Reg. Calculado
100	3000	3007,62
30	1500	1474.69
0	800	817.72
0	Grupo control	

$$LD_{50} = 1913 \quad LD_{90} = 2789 \quad LD_{100} = 3008$$

Autor: Roberto Enrique Stetson

Gráfico N° 8. Aplicación del cocimiento de frutos molidos de *Phytolacca dioica* como agente molusquicida contra huevos de *Biomphalaria tenagophila*.



#### 6.4.9. Efecto molusquicida del cocimiento de Ramas trituradas de *Phytolacca dioica* según concentraciones en ppm contra ejemplares Adultos, Juveniles, Bionatos y Huevos de *Biomphalaria tenagophila*

Luego de realizar ensayos a distintas concentraciones que variaron entre los 3000 ppm y los 6000 ppm, los resultados demostraron que no presentan actividad letal para adultos, juveniles, bionatos y huevos de *Biomphalaria tenagophila*, cuando fueron expuestos al cocimiento de ramas durante 24 horas.

#### 6.4.10. Efecto molusquicida del cocimiento de Flores Masculinas trituradas de *Phytolacca dioica* según concentraciones en ppm contra ejemplares Adultos de *Biomphalaria tenagophila*.

Los resultados mostraron que las concentraciones letales que mataron al 50 y 90 % adultos de *Biomphalaria tenagophila* (LD<sub>50</sub> y LD<sub>90</sub>) cuando fueron expuestos al cocimiento de flores masculinas durante 24 horas fueron 2512 ppm y 3798 ppm respectivamente. Tabla N° 12 y Gráfico N° 9.

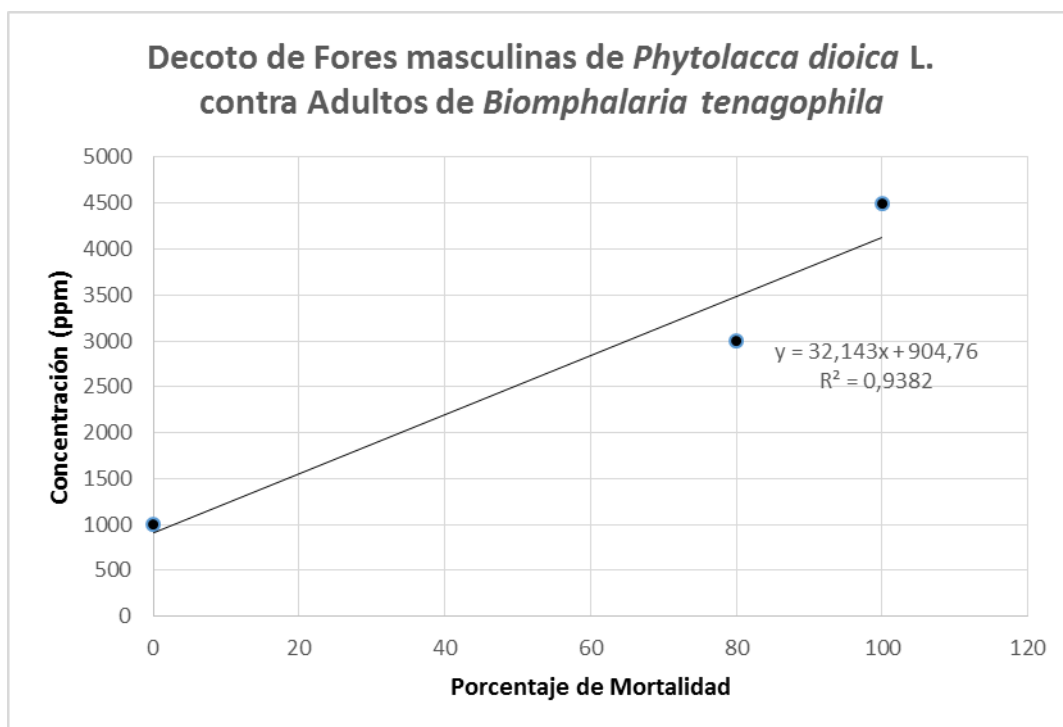
**Autor: Roberto Enrique Stetson**

**Tabla N° 12. Aplicación del cocimiento de Flores Masculinas trituradas de *Phytolacca dioica* como agente molusquicida contra caracoles Adultos de *Biomphalaria tenagophila*.**

Cocimiento de flores masculinas de <i>Phytolacca dioica</i> contra Adultos		
Mortalidad %	Concentración (ppm)	Reg. Calculado
100	4500	3933
80	3000	3297
0	1000	795
0	Control	-

$$LD_{50} = 2512 \quad LD_{90} = 3798 \quad LD_{100} = 4119$$

**Gráfico N° 9. Aplicación del cocimiento de Flores Masculinas trituradas de *Phytolacca dioica* como agente molusquicida contra caracoles Adultos de *Biomphalaria tenagophila*.**



#### 6.4.11. Efecto molusquicida del cocimiento de Flores Masculinas trituradas de *Phytolacca dioica* L. según concentraciones en ppm contra ejemplares Juveniles de *Biomphalaria tenagophila*

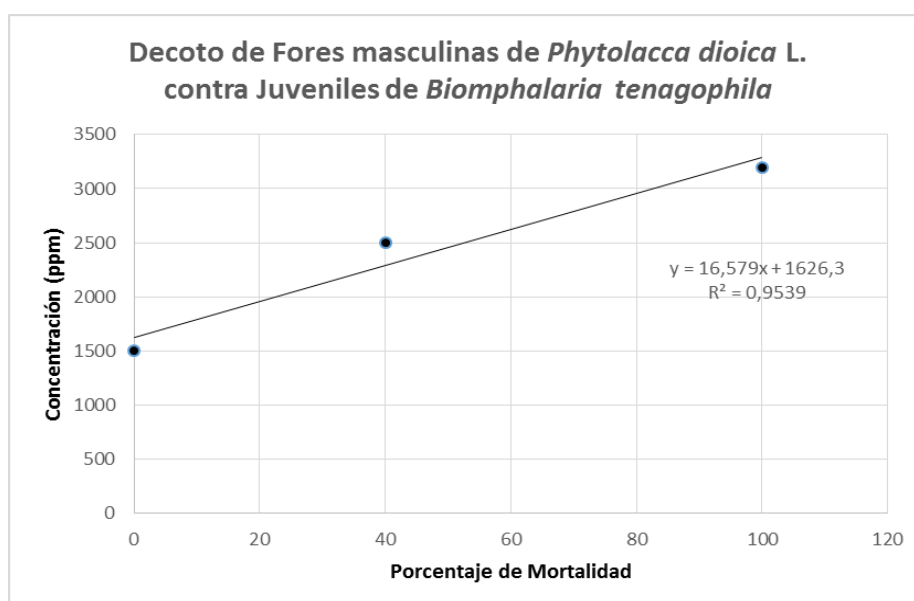
Los resultados mostraron que las concentraciones letales que mataron al 50 y 90 % de *Biomphalaria tenagophila* juveniles (LD<sub>50</sub> y LD<sub>90</sub>) cuando fueron expuestos al cocimiento de flores masculinas durante 24 horas fueron 2455 ppm y 3118 ppm respectivamente. Tabla N° 13 y Gráfico N° 10.

Tabla N° 13. Aplicación del cocimiento de Flores Masculinas trituradas de *Phytolacca dioica* como agente molusquicida contra caracoles Juveniles de *Biomphalaria tenagophila*.

Cocimiento de flores masculinas de <i>Phytolacca dioica</i> contra Juveniles		
Mortalidad %	Concentración (ppm)	Reg. Calculado
100	3200	3433
40	2500	2447
0	1500	1790
0	Control	

$$LD_{50} = 2455 \quad LD_{90} = 3118 \quad LD_{100} = 3284$$

Gráfico N° 10. Aplicación del cocimiento de Flores Masculinas trituradas de *Phytolacca dioica* como agente molusquicida contra caracoles Juveniles de *Biomphalaria tenagophila*.



Autor: Roberto Enrique Stetson

#### **6.4.12. Efecto molusquicida del cocimiento de Flores Masculinas trituradas de *Phytolacca dioica* según concentraciones en ppm sobre ejemplares Bionatos de *Biomphalaria tenagophila***

Los resultados mostraron que las concentraciones letales que mataron al 50 y 90 % de bionatos de *Biomphalaria tenagophila* (LD<sub>50</sub> y LD<sub>90</sub>) cuando fueron expuestos al cocimiento de flores masculinas durante 24 horas fueron: 2971 ppm y 3274 ppm respectivamente. Tabla N° 14 y Gráfico N° 11.

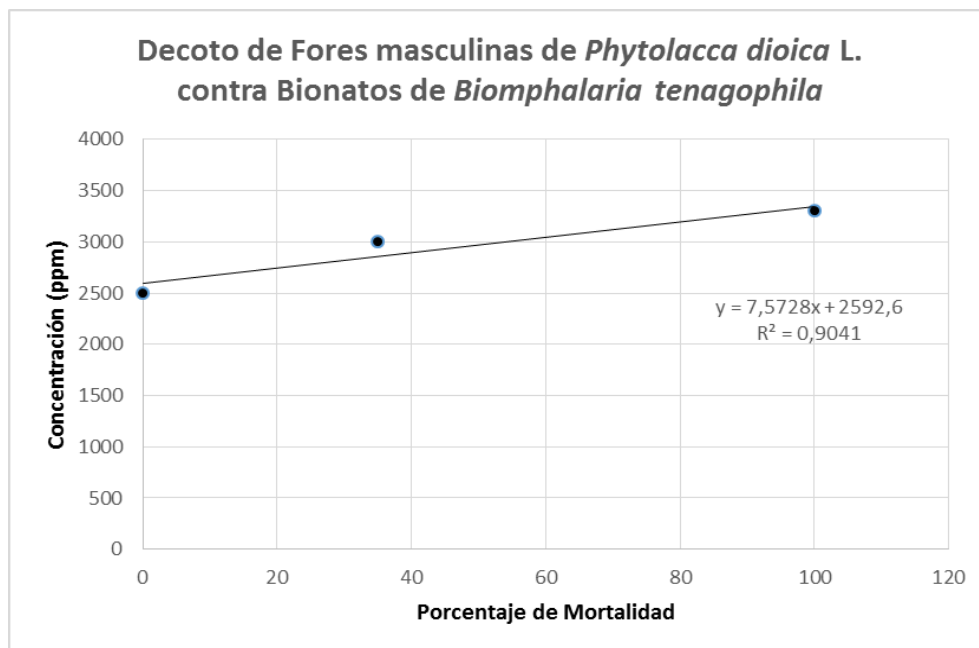
**Tabla No 14. Aplicación del cocimiento de Flores Masculinas trituradas de *Phytolacca dioica* como agente molusquicida contra caracoles bionatos de *Biomphalaria tenagophila*.**

Cocimiento de flores masculinas de <i>Phytolacca dioica</i> contra Bionatos		
Mortalidad %	Concentración (ppm)	Reg. Calculado
100	3300	3350
35	3000	2858
0	2500	2593
0	Control	

$$LD_{50} = 2971 \quad LD_{90} = 3274 \quad LD_{100} = 3350$$

**Gráfico N° 11. Aplicación del cocimiento de Flores Masculinas trituradas de *Phytolacca dioica* como agente molusquicida contra caracoles Bionatos de *Biomphalaria tenagophila*.**

Autor: Roberto Enrique Stetson



#### 6.4.13. Efecto molusquicida del cocimiento de Flores Masculinas trituradas de *Phytolacca dioica* L. según concentraciones en ppm sobre Huevos de *Biomphalaria tenagophila*.

Los resultados mostraron que las concentraciones letales que mataron al 50 y 90 % de huevos de *Biomphalaria tenagophila* (LD<sub>50</sub> y LD<sub>90</sub>), cuando fueron expuestos al cocimiento de flores masculinas durante 24 horas fueron 3701 ppm y 4388 ppm respectivamente. Tabla N° 15 y Gráfico N° 12.

Tabla No 15. Aplicación del cocimiento de Flores Masculinas trituradas de *Phytolacca dioica* L. como agente molusquicida contra Huevos de *Biomphalaria tenagophila*.

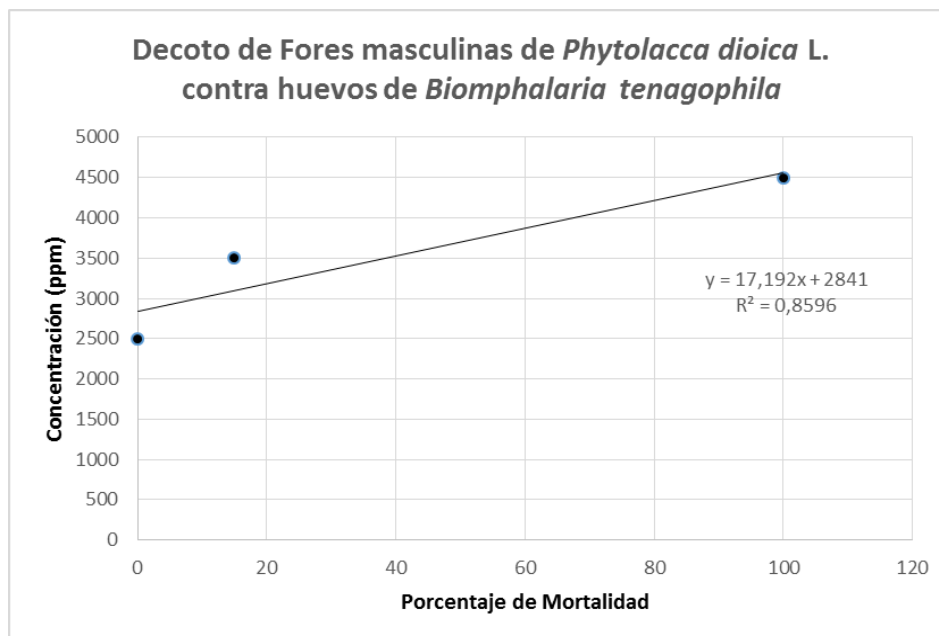
Cocimiento de flores masculinas de <i>Phytolacca dioica</i> contra Huevos		
Mortalidad %	Concentración (ppm)	Reg. Calculado
100	4500	4560
15	3500	3099
0	2500	2841
0	Control	

$$LD_{50} = 3701 \quad LD_{90} = 4388 \quad LD_{100} = 4560$$



**Autor: Roberto Enrique Stetson**

**Gráfico N° 12. Aplicación del cocimiento de Flores Masculinas trituradas de *Phytolacca dioica* L. como agente molusquicida contra Huevos de *Biomphalaria tenagophila***



#### **6.4.14. Efecto molusquicida del cocimiento de Flores Femeninas trituradas de *Phytolacca dioica* L. según concentraciones en ppm contra ejemplares Adultos de *Biomphalaria tenagophila*.**

Los resultados mostraron que las concentraciones letales que mataron al 50 y 90 % de individuos adultos de *Biomphalaria tenagophila* (LD<sub>50</sub> y LD<sub>90</sub>) cuando fueron expuestos al cocimiento de flores masculinas durante 24 horas fueron 985 ppm y 1391 ppm respectivamente. Tabla N° 16 y Gráfico N° 13.

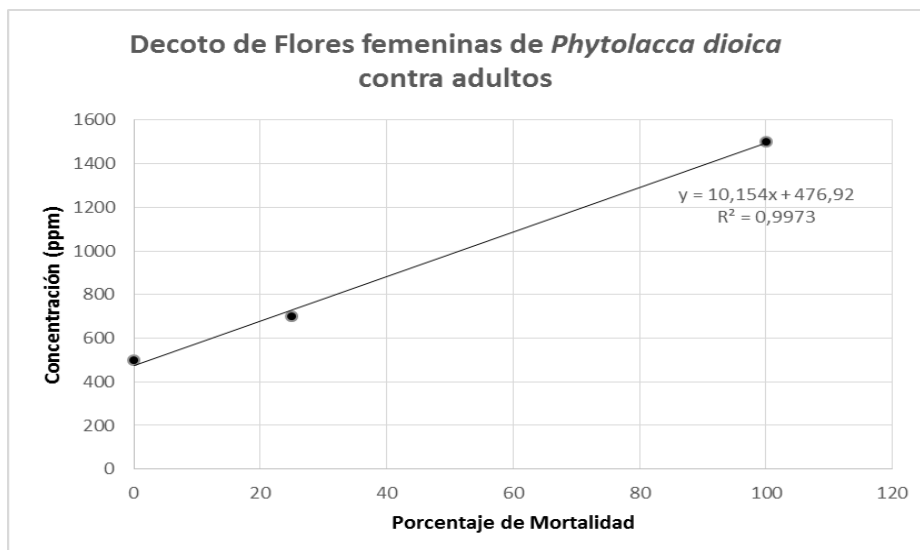
**Tabla No 16. Efecto del cocimiento de Flores Femeninas trituradas de *Phytolacca dioica* L como agente molusquicida contra caracoles Adultos de *Biomphalaria tenagophila*.**

Cocimiento de flores femeninas de <i>Phytolacca dioica</i> contra Adultos		
Mortalidad %	Concentración (ppm)	Reg. Calculado
100	1500	1492,32
25	700	730,77
0	500	476,92
0	Control	-

$$LD_{50} = 985 \quad LD_{90} = 1391 \quad LD_{100} = 1492$$

**Autor: Roberto Enrique Stetson**

**Gráfico N° 13. Efecto del cocimiento de Flores Femeninas trituradas de *Phytolacca dioica* L. como agente molusquicida contra ejemplares Adultos de *Biomphalaria tenagophila*.**



#### **6.4.15. Efecto molusquicida del cocimiento de Flores Femeninas trituradas de *Phytolacca dioica* L. según concentraciones en ppm sobre ejemplares Juveniles de *Biomphalaria tenagophila***

Los resultados mostraron que las concentraciones letales que mataron al 50 y 90 % de individuos juveniles de *Biomphalaria tenagophila* (LD<sub>50</sub> y LD<sub>90</sub>) cuando fueron expuestos al cocimiento de flores masculinas durante 24 horas fueron 923 ppm y 1292 ppm respectivamente. Tabla N° 17 y Gráfico N° 14.

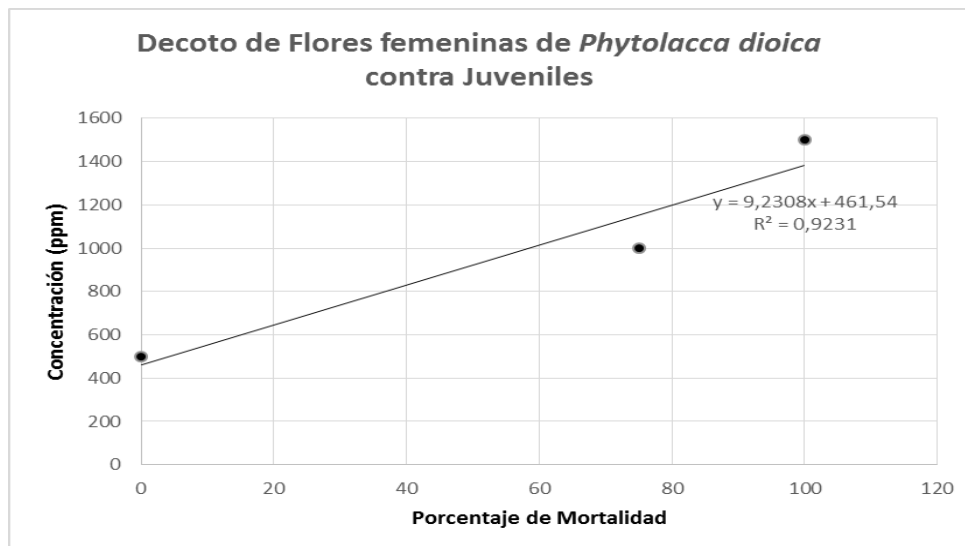
**Tabla N° 17. Efecto del cocimiento de Flores Femeninas trituradas de *Phytolacca dioica* L. como agente molusquicida contra caracoles Juveniles de *Biomphalaria tenagophila*.**

Cocimiento de flores femeninas de <i>Phytolacca dioica</i> L. en Juveniles		
Mortalidad %	Concentración (ppm)	Reg. Calculado
100	1500	1384,62
75	1000	1153,85
0	500	461,54
0	Control	

$$LD_{50} = 923 \quad LD_{90} = 1292 \quad LD_{100} = 1385$$

Autor: Roberto Enrique Stetson

Gráfico N° 14. Efectos del cocimiento de Flores Femeninas trituradas de *Phytolacca dioica* L. como agente molusquicida contra caracoles Juveniles de *Biomphalaria tenagophila*.



#### 6.4.16. Efecto molusquicida del cocimiento de Flores Femeninas triturada de *Phytolacca dioica* L. según concentraciones en ppm sobre ejemplares Bionatos de *Biomphalaria tenagophila*

Los resultados mostraron que las concentraciones letales que mataron al 50 y 90 % de *Biomphalaria tenagophila* bionatos (LD<sub>50</sub> y LD<sub>90</sub>) cuando fueron expuestos al cocimiento de flores masculinas durante 24 horas fueron: 951 ppm y 1340 ppm respectivamente. Tabla N° 20 y Gráfico N° 15.

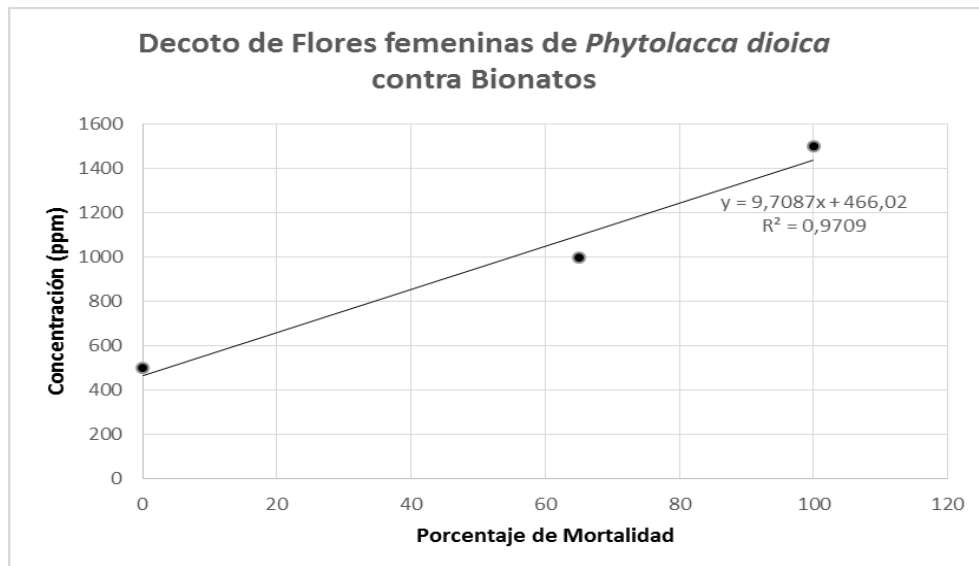
Tabla N° 20. Aplicación del cocimiento de Flores Femeninas trituradas de *Phytolacca dioica* L. como agente molusquicida contra caracoles Bionatos de *Biomphalaria tenagophila*.

Cocimiento de flores femeninas de <i>Phytolacca dioica</i> L. contra Bionatos		
Mortalidad %	Concentración (ppm)	Reg. Calculado
100	1500	1436,89
65	1000	1097,085
0	500	466,02
0	Control	

$$LD_{50} = 951 \quad LD_{90} = 1340 \quad LD_{100} = 1437$$

Autor: Roberto Enrique Stetson

Gráfico N° 15. Aplicación del cocimiento de Flores Femeninas trituradas de *Phytolacca dioica* L. como agente molusquicida contra caracoles Bionatos de *Biomphalaria tenagophila*.



**6.4.17. Efecto molusquicida del cocimiento de Flores Femeninas trituradas de *Phytolacca dioica* L. según concentraciones en ppm contra Huevos de *Biomphalaria tenagophila*.**

Los resultados mostraron que las concentraciones letales que mataron al 50 y 90 % huevos de *B. tenagophila* ( $LD_{50}$  y  $LD_{90}$ ), cuando fueron expuestos al cocimiento de flores masculinas durante 24 horas fueron 780 ppm y 965 ppm respectivamente. Tabla N° 18 y Gráfico N° 16.

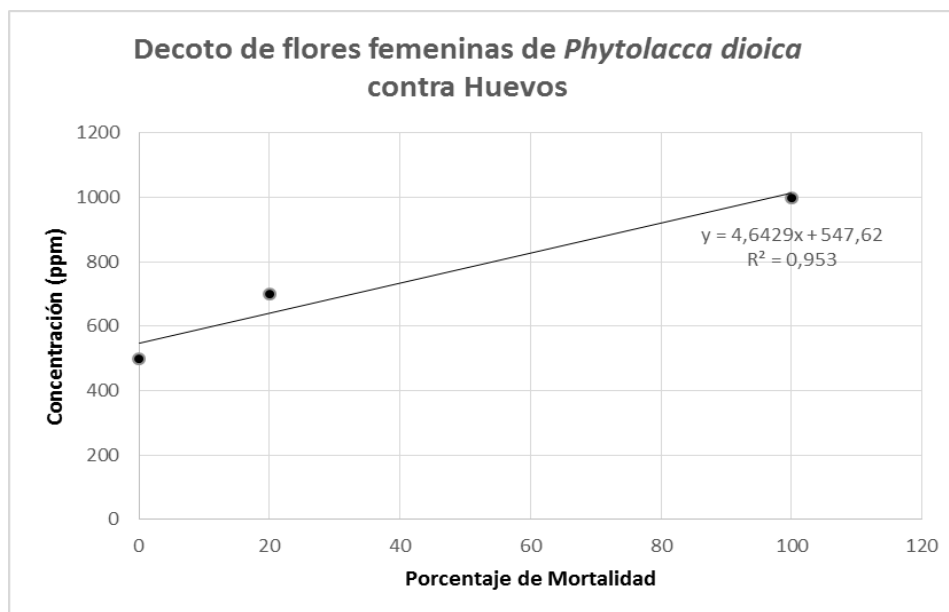
Tabla N° 18. Efecto del cocimiento de Flores Femeninas de *Phytolacca dioica* L. como agente molusquicida contra Huevos de *Biomphalaria tenagophila*.

Cocimiento de flores femeninas de <i>Phytolacca dioica</i> L. contra Huevos		
Mortalidad %	Concentración (ppm)	Reg. Calculado
100	1000	1012
20	700	640,48
0	500	547,62
0	Control	

$$LD_{50} = 780 \quad LD_{90} = 965 \quad LD_{100} = 1012$$

**Autor: Roberto Enrique Stetson**

**Gráfico N° 16. Efecto del cocimiento de Flores Femeninas trituradas de *Phytolacca dioica* L. como agente molusquicida contra Huevos de *Biomphalaria tenagophila*.**



**6.4.18. Efecto molusquicida del cocimiento de Ramas trituradas de *Phytolacca dioica* L. según concentraciones en ppm contra ejemplares de *Biomphalaria tenagophila*. Tabla N° 19 a.**

Tabla N° 19 a. Ensayo con Cocimiento de Ramas			
Ejemplares adultos	Ejemplares juveniles	Recientemente nacidos	Huevos
A 6000 ppm: LD <sub>0</sub>	A 6000 ppm: LD <sub>0</sub>	A 6000 ppm: LD <sub>0</sub>	A 6000 ppm: LD <sub>0</sub>

**6.4.19. Efecto molusquicida del cocimiento de Ramas trituradas de *Phytolacca dioica* L. según concentraciones en ppm sobre ejemplares de *Physa marmorata*. Tabla N° 19 b.**

Tabla N° 19 b. Ensayo con cocimiento de Ramas		
Ejemplares adultos	Ejemplares juveniles	Recientemente nacidos
A 6000 ppm: LD <sub>0</sub>	A 6000 ppm: LD <sub>0</sub>	A 6000 ppm: LD <sub>0</sub>

**6.4.20. Efecto molusquicida del cocimiento de Flores Masculinas trituradas de *Phytolacca dioica* L. según concentraciones en ppm contra ejemplares de *Physa marmorata* Guilding, 1828**

A los efectos de tener información de la acción molusquicida sobre una especie diferente de gasterópodo, se realizaron estudios de toxicidad sobre ejemplares de distintos tamaños de *Physa marmorata* Guilding, 1828, empleando la misma metodología que para *B. tenagophila*.

Los resultados mostraron que las concentraciones letales que mataron al 50 y 90 % de *Physa marmorata* (LD<sub>50</sub> y LD<sub>90</sub>), cuando fueron expuestos al cocimiento de flores masculinas durante 24 horas fueron 2720 ppm y 3379 ppm respectivamente. Tabla N° 20 y Gráfico N° 17.

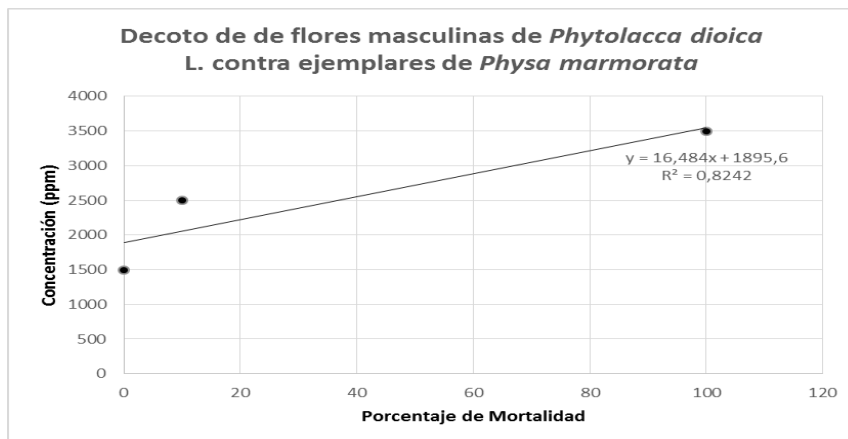
**Tabla N° 20. Efecto del cocimiento de Flores Masculinas trituradas de *Phytolacca dioica* L. como agente molusquicida contra ejemplares de *Physa marmorata*.**

Cocimiento de flores masculinas de <i>Phytolacca dioica</i> L en <i>Physa marmorata</i>		
%	Concentración (ppm)	Reg. Calculado
100	3500	3544
10	2500	2060
0	1500	1895,6
0	Control	

$$LD_{50} = 2720 \quad LD_{90} = 3379 \quad LD_{100} = 3544$$

Autor: Roberto Enrique Stetson

Gráfico N° 17. Efecto del cocimiento de Flores Masculinas trituradas de *Phytolacca dioica* como agente molusquicida contra ejemplares de *Physa marmorata*.



#### 6.4.21. Comparación de la toxicidad con otro molusquicida

Siguiendo lo propuesto por la WHO 1961 (56), se realizaron ensayos de toxicidad con una solución a 30 ppm y a 10 ppm de cristales de sulfato de cobre con agua de canilla declorada y se obtuvo una mortalidad de 100% LD<sub>100</sub>. Aún con diluciones tres veces menores la letalidad fue del 100%.

#### 6.5. Resumen del efecto del cocimiento de los distintos órganos de *Phytolacca dioica* L. sobre los distintos estadios del ciclo biológico de *B. tenagophila*.

A los efectos de comparar la acción molusquicida del cocimiento de los diferentes órganos de *Phytolacca dioica* L. sobre los diferentes estadios del ciclo biológico de *B. tenagophila*, se confeccionaron tablas donde se puede observar las dosis letales para cada órgano. Tablas 23 al 30.

**Autor: Roberto Enrique Stetson**

**Tabla N° 21. Resumen de los resultados de mortalidad según los distintos órganos de la *Phytolacca dioica* L. contra Adultos de *Biomphalaria tenagophila*.**

Resumen de los resultados de mortalidad según los distintos órganos de la <i>Phytolacca dioica</i> L. contra <u>Adultos</u> de <i>Biomphalaria tenagophila</i>				
Parte de la planta	LD <sub>50</sub>	LD <sub>90</sub>	LD <sub>100</sub>	R2 (grado de confiabilidad)
Hojas	1217	1757	1892	0,9286
Frutos	2452	3893	4254	0,9125
Ramas	0	0	0	-
Flores masculinas	2359	3610	3923	0,8883
Flores femeninas	985	1391	1492	0,9973

**Tabla N° 22. Resumen de los resultados de mortalidad según el cocimiento de los diferentes órganos *Phytolacca dioica* L. contra Juveniles de *Biomphalaria tenagophila*.**

Resumen de los resultados de mortalidad según los distintos órganos de <i>Phytolacca dioica</i> L. contra <u>Juveniles</u> de <i>Biomphalaria tenagophila</i>				
Parte de la planta	LD <sub>50</sub>	LD <sub>90</sub>	LD <sub>100</sub>	R2 (grado de confiabilidad)
Hojas	1327	2052	2233	0,9215
Frutos	2215	3773	4163	0,9145
Ramas	0	0	0	-
Flores masculinas	2455	3118	3284	0,9539
Flores femeninas	923	1292	1385	0,9231

**Tabla N° 23. Resumen de los resultados de mortalidad según los distintos órganos de *Phytolacca dioica* L. contra Bionatos de *Biomphalaria tenagophila*.**

Resultados de mortalidad según los distintos órganos de <i>Phytolacca dioica</i> L. contra <u>Bionatos</u> de <i>Biomphalaria tenagophila</i>				
Parte de la planta	LD <sub>50</sub>	LD <sub>90</sub>	LD <sub>100</sub>	R2 (grado de confiabilidad)
Hojas	1549	1937	2034	0,9709
Frutos	2071	3082	3230	0,9020
Ramas	0	0	0	-
Flores masculinas	2971	3274	3350	0,9040
Flores femeninas	985	1391	1437	0,9973



**Autor: Roberto Enrique Stetson**

**Tabla N° 24. Resumen de los resultados de mortalidad según los distintos órganos de *Phytolacca dioica* contra Huevos de *Biomphalaria tenagophila***

Resumen de los resultados de mortalidad según los distintos órganos de <i>Phytolacca dioica</i> L. contra <u>Huevos</u> de <i>Biomphalaria tenagophila</i>				
Parte de la planta	LD <sub>50</sub>	LD <sub>90</sub>	LD <sub>100</sub>	R2 (grado de confiabilidad)
Hojas	2300	2460	2500	1
Frutos	1913	2789	3008	0,9996
Ramas	0	0	0	-
Flores masculinas	3701	4388	4560	0,8596
Flores femeninas	780	965	1012	0,953

**Tabla N° 25. Resumen del efecto del cocimiento de Hojas de *Phytolacca dioica* sobre los distintos estadios del ciclo biológico de *B. tenagophila*.**

Resumen del efecto del cocimiento de <u>Hojas</u> de <i>Phytolacca dioica</i> L. sobre los distintos estadios del ciclo biológico de <i>B. tenagophila</i>			
Estadios del ciclo biológico de <i>B. tenagophila</i>	Cocimiento de Hojas		
	LD <sub>50</sub>	LD <sub>90</sub>	LD <sub>100</sub>
Adulto	1217	1757	1757
Juvenil	1327	2052	2233
Bionatos	1549	1937	2034
Huevos	2300	2460	2500

**Tabla N° 26. Resumen del efecto del cocimiento de Frutos de *Phytolacca dioica* L. sobre los distintos estadios del ciclo biológico de *B. tenagophila*.**

Resumen del efecto del cocimiento de <u>Frutos</u> de <i>Phytolacca dioica</i> L. sobre los distintos estadios del ciclo biológico de <i>B. tenagophila</i> .			
Estadios del ciclo biológico de <i>B. tenagophila</i>	Cocimiento de Frutos		
	LD <sub>50</sub>	LD <sub>90</sub>	LD <sub>100</sub>
Adulto	2452	3893	4254
Juvenil	2215	3773	4163
Bionatos	2071	3082	3335
Huevos	1913	2789	3008

Autor: Roberto Enrique Stetson

Tabla N° 27. Resumen del efecto del cocimiento de Flores Masculinas de *Phytolacca dioica* L. sobre los distintos estadios del ciclo biológico de *B. tenagophila*.

Resumen del efecto del cocimiento de <u>Flores masculinas</u> de la <i>Phytolacca dioica</i> L. sobre los distintos estadios del ciclo biológico de <i>B. tenagophila</i>			
Estadios del ciclo biológico de <i>B. tenagophila</i>	Cocimiento de Flores masculinas		
	LD <sub>50</sub>	LD <sub>90</sub>	LD <sub>100</sub>
Adulto	2359	3610	3923
Juvenil	2612	3269	3284
Bionatos	2971	3274	3350
Huevos	3701	4388	4560

Tabla N° 28. Resumen del efecto de las Flores Femeninas de *Phytolacca dioica* L. sobre los distintos estadios del ciclo biológico de *B. tenagophila*.

Resumen del efecto del cocimiento de las <u>Flores femeninas</u> de la <i>Phytolacca dioica</i> L. sobre los distintos estadios del ciclo biológico de <i>B. tenagophila</i>			
Estadios del ciclo biológico de <i>B. tenagophila</i>	Cocimiento de Flores femeninas		
	LD <sub>50</sub>	LD <sub>90</sub>	LD <sub>100</sub>
Adulto	985	1392	1492
Juvenil	923	1292	1385
Bionatos	951	1340	1437
Huevos	780	965	1012

Algunos órganos de la planta tales como hojas, flores masculinas, femeninas y los frutos en cocimiento, demostraron tener efectos relajantes sobre *Biomphalaria tenagophila* a distintas concentraciones. Específicamente con el cocimiento de frutos, coincide con lo demostrado por Toro 2009 (100), sobre la acción analgésica de extractos obtenidos de frutos de *P. dioica*, frente al dolor agudo y/o crónico, esta acción estaría dada por el extracto butanólico presentes en las saponinas Triterpénicas de *P. dioica*.

## 7. DISCUSIÓN

Es destacable que los distintos órganos estudiados hojas, ramas y flores de *Phytolacca dioica* L, en crudo, no dieron los mismo resultados que los obtenidos

por Lemma (12) para *Phytolacca dodecandra* L'Hér, sin embargo los cocimiento de las hojas y flores si, en distintas dosis.

Estas dosis revelan la efectividad de los componentes presentes en *Phytolacca dioica* L, como en *Phytolacca dodecandra* L'Hér y similares resultados según reportes previos, para extractos de otras especies de plantas. (6. 7. 8. 9. 10 y 11).

La DL<sub>90</sub> es más de 1000 veces mayor que la obtenida por Lemma (12). al probar la acción de 100 ppm de *Phytolacca dodecandra* L'Hér sobre *Biomphalaria pfeifferi ruppellii* (Dunker) y superior a la establecida por la WHO para sustancias molusquicidas obtenidas a partir de plantas, “La preparación cruda de la planta deben presentar a 100 mg/l o menos, la mortalidad del 90 % de los caracoles expuestos por 24 h a una temperatura definida” y “En extracto acuoso frío o caliente de las partes de la planta deben presentar a 20 mg/l o menos, la mortalidad del 90 % de los caracoles expuestos por 24 h a una temperatura definida” (3).

Sin embargo, este resultado no puede ser despreciado, porque la búsqueda de nuevas entidades moleculares con acción molusquicida a partir de fuentes naturales se fundamenta en la necesaria sostenibilidad ecológica, accesibilidad al material de estudio, facilidad para modificaciones sintéticas.

En este contexto, se consideró que las hojas y las flores de *Phytolacca dioica* L pueden ser una fuente primaria con potencial acción molusquicida.

Es interesante destacar también la importancia del conocimiento de las acciones tóxicas de las hojas de *Phytolacca dioica* L (ombú), debido a que en la medicina popular, se utilizan para aliviar cefalalgias, para cicatrizar y coagular heridas y la utilización de *Biomphalaria tenagophila* como bioindicador de toxicidad en productos alimenticios líquidos.

Otra propiedad que resulta interesante para la utilización del ombú como molusquicida es el hecho de que las sustancias tóxicas son hidrosolubles por lo tanto fácilmente eliminables del producto tratado.

Los resultados exitosos de las actividades molusquicidas de muchas plantas nativas deberían ser promovidos para ser utilizadas en el control biológico.

Se sabe que muchas de ellas elaboran metabolitos secundarios contra los ataques de insectos, bacterias, hongos y virus, y que podrían ser utilizados con fines similares en otras especies de interés sanitario o agronómico, como se ha demostrado con *Phytolacca dodecandra* L'Hér.

### **7. 1. Relevamiento de *Phytolacca dioica* L.**

Se ha constatado en forma inédita la presencia de ejemplares de *Phytolacca dioica* L. en siete lugares de la ciudad de Posadas.

La mayoría de los ejemplares relevados y estudiados se encontraron en proximidades del Anfiteatro de la ciudad de Posadas, sobre la costanera.

Según el Catalogo de Plantas Vasculares (citar) el ombú aparece situado solo en dos localidades de la provincia de Misiones. El hecho de que se encuentren ejemplares espontáneos en la ciudad de Posadas, resultaría del tipo de dispersión de la especie por las aves (ornitocoria). De acuerdo con observaciones propias las palomas domésticas son las responsables de esta dispersión. Si bien los ejemplares más desarrollados aparecen en la costanera principalmente próximas al anfiteatro, se pudo comprobar la presencia de patines en baldíos, veredas y patios.

De acuerdo con estos resultados, se debería modificar el área de distribución de la especie.

### **7. 2. Efecto molusquicida de los distintos órganos de *Phytolacca dioica* L. masculino y femenino, molidos en crudo.**

Si bien Helaly F. M. et al (13) (14) dicen haber encontrado acción molusquicida en hojas de *Phytolacca dioica* L. sobre *Biomphalaria alexandrina* Ehrenberg, 1831 hospedador intermediario de la Esquistosomiasis en Egipto, a la luz de los resultados del presente estudio se pudo determinar que ninguno de los órganos de *Phytolacca dioica* L. tanto en ejemplares masculinos como femeninos, molidos y en crudo tienen efecto molusquicida sobre ninguno de los estadios del ciclo biológico de *Biomphalaria tenagophila*, por lo menos en las dosis

recomendadas por la Organización Mundial de la Salud (entre 10 y 25 ppm), como se esperaba, según los resultados obtenidos en investigaciones realizadas en *Phytolacca dodecandra* según Lemma 1970 (12) y WHO (1961) (56) aunque se experimentó hasta 800 ppm.

### **7.3. Efecto molusquicida con el cocimiento de los distintos órganos de ejemplares masculinos y femeninos de *Phytolacca dioica* L.**

**7.3.1.** En la segunda etapa de las experiencias se demostró efectos molusquicidas en hojas, frutos y flores, no así en ramas de *Phytolacca dioica* L, lográndose determinar la dosis letal para el 50 % de los ejemplares expuestos, expresado como LD<sub>50</sub> y para el 90%, LD<sub>90</sub> para adultos, juveniles, bionatos y huevos de *Biomphalaria tenagophila* y de la flores masculinas sobre *Physa marmorata* con diferentes grados de eficiencia según las concentraciones, luego de ser expuestos durante 24 horas.

**7.3.2.** Se pudo determinar que las hojas son más tóxicas para los individuos adultos que para los demás estadios ya que requirieron dosis menores (ppm) de molusquicida, 1217 ppm, para lograr el LD<sub>50</sub> y 1757 ppm para lograr LD<sub>90</sub>, contra 1327 ppm para lograr el LD<sub>50</sub> y 2052 ppm para lograr LD<sub>90</sub> en los juveniles, 1549 ppm para lograr el LD<sub>50</sub> y 1937 ppm para lograr LD<sub>90</sub> en los bionatos y 2300 ppm para lograr el LD<sub>50</sub> y 2460 ppm para lograr LD<sub>90</sub> en los huevos. Tabla 27.

**7.3.3.** Los más resistentes a el cocimiento de hoja fueron los huevos que requirieron de dosis más elevadas, 2300 ppm para lograr el LD<sub>50</sub> y 2400 ppm para lograr LD<sub>90</sub>; 539 ppm más para LD<sub>50</sub> y 1204 ppm más para el LD<sub>90</sub>, que para los adultos; 302 ppm más para LD<sub>50</sub> y 984 ppm más para el LD<sub>90</sub>, que para los juveniles y 751 ppm más que la LD<sub>50</sub> y 523 ppm más para el LD<sub>90</sub>, que para los bionatos.

**7.3.4.** Se pudo constatar que los frutos son más tóxicos para los huevos que para los demás estadios ya que requirieron dosis menores (ppm) para lograr el LD<sub>50</sub> para lograr LD<sub>90</sub>.

**7.3.5.** Queda demostrado que las flores masculinas son menos tóxicas para los huevos que para los demás estadios de *Biomphalaria tenagophila* Tabla 29. Con respecto a *Physa marmorata* la LD<sub>50</sub> dio un resultado intermedio, mientras que

los LD<sub>90</sub> y LD<sub>100</sub> estuvieron por arriba de los valores obtenidos para los bionatos y juveniles de de *Biomphalaria tenagophila*.

**7.3.6.** Las flores femeninas resultaron ser el órgano de la planta con mayor actividad molusquicida ya que se requirió dosis menores entre 780 y 985 ppm para lograr LD<sub>50</sub> y entre 965 y 1340 ppm para el LD<sub>90</sub> de todas las etapas del ciclo biológico de *Biomphalaria tenagophila*. Tabla 30. Estos datos sugieren que los compuestos presentes en el decoccimiento ejercerían una acción protectora en las flores contra predadores de manera de asegurar la propagación de la especie.

**7.3.7.** Algunos órganos de la planta tales como hojas, flores masculinas, femeninas y los frutos en y el cocimiento, demostraron tener efectos relajantes sobre *Biomphalaria tenagophila* a distintas concentraciones. Específicamente con el cocimiento de los frutos, coincide con lo demostrado por Toro 2009 (100), sobre la acción analgésica de extractos obtenidos de frutos de *P. dioica*, frente al dolor agudo y/o crónico, esta acción estaría dada por el extracto butanólico presentes en las saponinas Triterpénicas de *P. dioica*.

En el caso de los frutos, a concentraciones de 3000 ppm se observó efecto relajante en el 100% de los ejemplares juveniles y adultos expuestos y en los acuarios de recuperación produjeron la muerte del 60 % de los adultos y el 65% de los juveniles después de 3 días y a 2500 ppm, producen la relajación del 100% de los ejemplares de juveniles expuestos y la muerte del 50%.

Las flores masculinas a 3000 ppm producen la relajación del 100% de los adultos expuestos y la muerte del 55%, pero su efecto relajante se observa también a los 1000 ppm.

Las flores femeninas a 500 ppm producen la relajación del 60% de los adultos y juveniles y a 700 ppm la relajación del 70% de los adultos.

Las hojas también mostraron acción relajante a 1200 ppm sobre el 40% de los adultos expuestos.

La acción relajante también se pudo observar en una prueba adicional con gasterópodos de la especie *Physa marmorata* Guilding; en cocimiento de flores femeninas a 700 ppm y flores masculinas a 3000 ppm

## 8. CONCLUSIONES

El presente trabajo es considerado inédito y relevante, ya que por primera vez se ha obtenido y aplicado extractos de los diferentes órganos de *Phytolacca dioica* L. demostrando la acción molusquicida de hojas y flores contra el gasterópodo planorbideo *Biomphalaria tenagophila* sobre el cual nunca antes se llevó a cabo experiencias de esta índole y que podrían actuar como hospedadores reservorios del *Schistosoma mansoni* en nuestro país, portando de esta forma una posible herramienta para el controlar de eventuales focos de esquistosomiasis en la región, a bajo costo, con productos naturales y biodegradables.

También ha quedado demostrado que *Biomphalaria tenagophila* puede ser usado como un modelo biológico en experiencia de biotoxicidad.

Se proveen datos que indican la necesidad de elaborar un nuevo mapa de distribución de la especie *Phytolacca dioica* L para la provincia de Misiones en particular y por consiguiente para la Republica Argentina en general.

Se demostró que los cocimientos de las hojas frutos y flores de *P. dioica* resultaron activos en todas las fases del ciclo biológico del molusco. Las flores femeninas son las que poseen mayor acción.

Acorde con los datos obtenidos, se contaría con una posible herramienta para el control de eventuales focos de esquistosomiasis en la región a bajo costo, además la ventaja de presentar componentes hidrosolubles que hace que sea de fácil eliminación de los productos tratados.

## **9. PROYECCIÓN DE TRABAJO A FUTURO**

Se propone como trabajo a futuro un screening fitoquímico para la identificación de o los principios molusquicida de *Phytolacca dioica* L.

Investigar la forma de potenciar la acción molusquicida de los principios activos de hojas y flores, a los efectos de lograr una mayor eficacia a menores concentraciones.

Realizar experiencias con otros organismos acuáticos a los efectos de conocer el impacto de la acción biocida de los extractos de hojas y flores.

Explorar dentro de la familia Phytolaccaceae de nuestra región otras especies para determinar su posible acción molusquicida.

A partir de los resultados obtenidos de la presente tesis se decidió la formulación de un Proyecto de Investigación Incentivado aprobado por la Secretaría de Investigación y Posgrado de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Misiones por Res CD.253/14 (23-06/14), denominado "Obtención y Caracterización de Extractos



de Hojas de *Phytolacca dioica* L. (Ombú)” . Código 4 16Q549, del cual soy participante como investigador.

## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BORDA, C. E. & M. J. FREJA, L. A MOSQUEDA, O. BENÍTEZ. Hospederos intermediarios y definitivos de *Schistosoma mansoni* en la provincia de Corrientes, Argentina. Lib. de Res. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas, 2006.  
<http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt2006/03-Medicas/2006-M-127.pdf>
2. GRAEFF-TEIXEIRA C & C.B. ANJOS, V.C. OLIVEIRA, C. F.P. BELLOSO, B. S. FONSECA, C. VALAR. Identification of transmission focus *Schistosoma mansoni* in the southernmost Brazilian state, Rio Grande do Sul. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 94: 9-10. 1999.
3. WHO. Report of the Scientific Working Group on Plant Molluscicides. Geneva, 31 January – 2 february 1983.
4. MELENDEZ, P. A. & V. A. CAPRILES. Molluscicidal activity of plants from Puerto Rico. *Ann. Trop. Med. Parasitol*; 96(2):209-18. Mar 2002.
5. VILMA L. & T. O. HENDERSON, D. MASCARA, T. KAWANO. Atividade moluscicida de princípios ativos de folhas de *Lycopersicon esculentum* (Solanales, Solanaceae) em *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda, Planorbidae). *Iheringia, Sér. Zool.*, Porto Alegre, 95(2):213-216, 30 de junho de 2005.
6. PIÑA PEREZ M. & L. DIÉGUEZ FERNANDEZ, O. A. ABREU GUIRADO, R. VÁZQUEZ CAPOTE Y G. GONZÁLEZ AGUILAR. Molluscicidal activity of Paraiso (*Melia azedarach* L.) (*Meliaceae*) on *Lymnaea cubensis*, host snail of Fasciolosis. *Rev. Saúde Pública* vol.32 n.3 São Paulo Jun. 1998.
7. JIMÉNEZ, Y. H. & J. E. TACORONTE MORALES, J. SÁNCHEZ NODA, A. A. VÁZQUEZ PERERA, A. GUTIÉRREZ, O. T. TIOMNOVA, A. MESA DÍAZ. Lab studies on the mollusk action of pine tree resin, collophonia, on *Biomphalaria havanensis*. *Rev. Cubana Med. Trop.* V.60 n.2 Ciudad de la Habana Mayo-ago. 2008.

8. FERRER LÓPEZ, J. R. & R. SÁNCHEZ NODA, G. PERERA DE PUGA, M. YONG CONG, J. SÁNCHEZ NODA. Laboratory study of the molluscicidal action of agave (*Agave legrelliana*) on *Biomphalaria havanensis* action of agave (*Agave legrelliana*) on *Biomphalaria havanensis*. Rev. Cubana med. trop;45(2):118-21, mayo-ago. 1993.
9. MENDES N. M. & J. P. PEREIRA, C. PEREIRA DE SOUZA, M. DE L. LIMA DE OLIVEIRA. Ensaio preliminares em laboratório para verificar a ação moluscicida de algumas espécies da flora brasileira. Rev. Saúde Pública vol.18 no.5 São Paulo Oct. 1984.
10. DIAZ GARCES R. & J. R. FERRER LOPEZ. Efecto de las dosis letales de plantas de la familia Agavaceae sobre la actividad cardíaca y la oviposición de *Biomphalaria havanensis* (Mollusca: Planorbidae). Rev. Cubana Med. Trop. v.48 n.1 Ciudad de la Habana ene.-abr. 1996.
11. MENDEZ, N. M. & M. C VASCONCELLOS, D. F BAPTISTA, R. S ROCHA, V. T SCHALL. Evaluation of the Molluscicidal Properties of *Euphorbia splendens* var. *hislopii* (N.E.B.) Latex: Experimental Test in an Endemic Area in the State of Minas Gerais, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz vol. 92 no. 5 Rio de Janeiro Sept./Oct. 1997
12. LEMMA, A. Laboratory y Field Evaluation of the Molluscicidal Properties of *Phytolacca dodecandra*. Bull.Org.mond.Sante, 42, 597-612. 1970.
13. HELALY, F. M. et al. Development of slow release styrene/butadiene rubber formulations containing *Phytolacca dioica* L as source of molluscicidal saponin. Institute of Materials, London, ROYAUME-UNI, vol. 26, n°1, pp. 32-37. 1997.
14. HELALY, F. M. & A. A. AHMED. Parameters affecting the migration of molluscicidal saponin from styrene butadiene rubber formulations containing *Phytolacca dioica* L. Journal of elastomers and plastics. vol. 32, n°4, pp. 329-345. 2000.
15. WHO N° 214. Los molusquicidas. Segundo Informe del Comité de Expertos en Bilharziasis. Serie de informes técnicos N° 214. Ginebra, sep. a oct. 1960.

16. WHO. Moluscicide screening and evaluation. Bulletin of the World Health Organization, 33, 567-581. 1965.
17. WALLACE, P. & P. GEOFFREY. Atlas de Medicina tropical y parasitología. 6ta Edición. Ed. ELSEVIER. 2008.
18. OMS, Esquistosomiasis. Nota descriptiva N°115. 2014.  
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs115/es/>
19. Normas técnicas 1979. Guía de Vigilancia Epidemiológica y Control de la Esquistosomiasis. Dirección Nacional de Promoción y Protección de la Salud. Ministerio de Bienestar Social de la Nación. 1979.
20. Esquistosomiasis humana: manifestaciones clínicas, diagnóstico y tratamiento. Jano N° 1.746. 25 de Septiembre de 2009.  
[http://www.jano.es/ficheros/sumarios/1/0/1746/14/00140018\\_LR.pdf](http://www.jano.es/ficheros/sumarios/1/0/1746/14/00140018_LR.pdf).
21. HICKMAN, C. P., OBER, W. C. & C. W. GARRISON. 2006. *Principios integrales de zoología*, 13ª edición. McGraw-Hill-Interamericana, Madrid.
22. LOMBARDERO O. J. Los nombres científicos de los parásitos y su significado. Ed. EUDEBA. 1978.
23. Phytolaccaceae  
<http://www.biologia.edu.ar/diversidadv/fascIII/1.%20Phytolaccaceae.pdf>
24. HARRELL, A. Schistosomiasis (Bilharzia)  
<http://www.austincc.edu/microbio/2421b/sm1.htm>
25. LOKER E. S. A comparative study of the life-histories of mammalian schistosomes. Parasitology. 1983 Oct; 87 (Pt 2):343-69.
26. WHO N° 115. Schistosomiasis. Fact Sheet. Genève: World Health Organization; 2007.

27. QUINTANA, M.G. Una enfermedad del desarrollo que amenaza a la Argentina. *Cienciahoy*. Volumen 10 - N° 56 - Abril/ Mayo 2000.  
<http://rch.retina.ar/ln/hoy56/enfermedad.htm>
28. O.M.S. Control de la Esquistosomiasis. Serie de informaciones Técnicas 728. Ginebra. Pp. 1-126. 1985.
29. MANSON-BAHR, P. Patrick Manson, El Padre de la Medicina Tropical. Ed. Tomas Nelson. 1962.
30. BEZERRA LUNA LIMA, C. M, F. I. SOUSA FREITAS, L. C. SOARES LIMA DE MORAIS M. G. DOS SANTOS CAVALCANTI<sup>1</sup>, L. FERREIRA DA SILVA<sup>3</sup>, R. J. RIBEIRO PADILHA, C. GAYOSO SIMÕES BARBOSA, F. A. BRAYNER DOS SANTOS, L. C. ALVES, M. F. FORMIGA MELO DINIZ. Ultrastructural study on the morphological changes to male worms of *Schistosoma mansoni* after *in vitro* exposure to allicin. *Rev. da Soc. Bras. de Medicina Tropical* 44(3):327-330, mai-jun, 2011.
31. OPS/OMS. Esquistosomiasis. Marzo 2014.  
[http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&gid=24721&Itemid=](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=24721&Itemid=)
32. BORDA, C. E. & M. J. FREJA, L. A. MOSQUEDA, O. BENITEZ. Hospederos intermediarios y definitivos de *Schistosoma mansoni*. Resumen: M-127. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas Universidad Nacional del Nordeste 2006.
33. OMS. "Determinación de la importancia sanitaria de la bilharziasis", Organización Mundial de la Salud, Serie de Informes Técnicos, N° 349. 1967.
34. CIE-10 B65. Esquistosomiasis.  
[http://www.fonseca.vet.br/parasitologia/acha/Acha\\_esquistosomiasis.pdf](http://www.fonseca.vet.br/parasitologia/acha/Acha_esquistosomiasis.pdf)
35. ARAUJO, J. D. A pesquisa em esquistossomose no Brasil. In *Modernos Conhecimentos sobre Esquistossomose Mansônica*. Biblioteca da Academia Mineira de Medicina 14: 9-18. 1986.

36. PARAENSE, W. L. Distribuição dos caramujos no Brasil. In Modernos Conhecimentos sobre Esquistossomose Mansonica no Brasil. Biblioteca da Academia Mineira de Medicina 14: 117-128. 1986.
37. COURA, J. R. & R. S. AMARAL. Epidemiology and Control of Schistosomiasis. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 99(Suppl. I), 2004.
38. Catálogo de Plantas Vasculares del Cono Sur, del Inst. Darwinion. (<http://www.darwin.edu.ar/Proyectos/FloraArgentina/DetalleEspecie.asp?forma=&variedad=&subespecie=&especie=dioica&genero=Phytolacca&espcod=25576>).
39. GRAEFF-TEIXEIRA, C. & C. B. DOS ANJOS, V. C. DE OLIVEIRA, C. F.P. VELLOSO, M. B. S. DA FONSECA, C. VALAR, C. MORAES, C. T. GARRIDO, R. S. DO AMARAL. Identification of a Transmission Focus of *Schistosoma Mansoni* in the Southern Most Brazilian State, Rio Grande do Sul. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 94(1): 9-10, Jan./Feb. 1999.
40. BORDA, C. E. & M. J. REA, O. D. BENITEZ, L. A. S. MOSQUEDA. Situación Epidemiológica de la Esquistosomiasis en la Argentina, Paraguay Y Uruguay. Trabajo presentado en XLV Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Pernambuco, Brasil 8 al 12 de marzo, 2009.
41. STEVENS, P. F. Angiosperm Phylogeny Website. Version 12, July 2012.
42. GUAGLIANONE, E.R. Phytolaccaceae. En N.S. Troncoso y N.M. Bacigalupo (Eds.). Fl. Il. Entre Rios, Colecc. Ci. Inst. Nac. Tecnol. Agropecu. 6 (3a): 209-222 p. 1987.
43. MARTÍNEZ CROVETTO, R. Las plantas utilizadas en medicina popular en el noroeste de Corrientes (República Argentina). Volumen 69 de Miscelánea (Fundación Miguel Lillo). Editor Ministerio de Cultura y Educación, Fundación Miguel Lillo, 139 pp. 1981.
44. DIMITRI, M. J. & F. ROSARIO, J. LEONARDIS & J. S. BILONI. El nuevo libro del árbol. Editorial El Ateneo. 1: 190. 1997.

45. DOMINGUEZ DE ODERIZ, E. M. Viaje al país Vegetal de los Correntinos. Ed. Agencia periodística CID-Diario del viajero. 1-112 p. 2000.
46. YOUNGKEN, H., Tratado de Farmacognosia - México, Ed. Atlante, 893:895 - 1373 pp. 1951.
47. PAMPLONA J. Enciclopedia de las plantas medicinales. 2ª ed. Madrid, Sa-feliz, 722 p. 1996.
48. BASE DE DATOS sobre botánica World Agroforestry Centre, [http://www.worldagroforestry.org/treedb/AFTPDFS/Phytolacca\\_dioica](http://www.worldagroforestry.org/treedb/AFTPDFS/Phytolacca_dioica).
49. ESCALANTE, A. & C. SANTECCHIA, S. LOPEZ, M. GATTUSO, A. RAVELO, F. DELLE, M. GONZALEZ, S. ZACCHINO. Isolation of antifungal saponins from *Phytolacca tetramera*, an Argentinean species in critic risk. Jour-nal of Ethnopharmacology 82: 29-34. 2002.
50. TORO VEGA, V. A. Evaluación de la Actividad Analgésica Aguda y Cróni-ca de *Phytolacca dioica*. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas Depar-tamento de Química Farmacológica y Toxicológica Santiago, Chile. 2009.
51. PARAENSE, W. L. Self and cross-fertilization in *Australorbis glabratus*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 53: 285-291. 1955.
52. MORGAN, J. A. T. & R. J. DEJONG, S. D. SNYDER, G. M. MKOJI, E. S. LOKER. "Schistosoma mansoni and Biomphalaria: Past history and future trends". *Parasitology* 123 (7). 2003.
53. MAJOROS, G. B. & Z. FEHÉR, T. DELI, G. FÖLDVÁRI. "Establishment of Biomphalaria tenagophila Snails in Europe". *Emerging Infectious Diseases* 14 (11): 1812–1814. 2008.
54. RUMI, A. & D. E. GUTIÉRREZ GREGORIC, V. NÚÑEZ, G. A. DARRIGRAN. Malacología Latinoamericana. Moluscos de agua dulce de Ar-gentina. Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol. ISSN-0034-7744) Vol. 56 (1): 77-111, March. 2008.

55. STETSON, R. E. Nuevas Localidades para *Biomphalaria Tenagophila* (Gasteropoda, Planorbidae) en la Provincia de Misiones, Argentina. Rev. de Cs. y Tec. de la Fac. de Cs. Exact. Quím. y Nat. UNaM. Año 10. N°10ª. 2008.
56. WHO. Molusquicidas. Segundo informe del Comité de Expertos en Bilharziasis Serie de Informes Técnicos n° 214, pp. 1-60. 1961.
57. SOKAL, R. R. & F. J. ROHLF. Introduction to Biostatistics. W. H. Freeman and company, San Francisco. 1973.
58. BUOL, S. W. & F. D. HOLE, R. J. MCCRACKEN. Soil Genesis and Classification. Iowa State University Press, 360 páginas. 1973.
59. FINNEY, D. Estatistical Methods in Bioassay. Centre of Disease Control. 1936.
60. BUSVINE, J. R. A critical Review of the Technique for Testing Insecticides. Second edition. London. 1971.
61. ROTH . L; M. DAUNDERER, K. KORMANN. Giftflanzen Pflanzengifte 4ta Edic. Editorial Nikol – Verlag, Alemania. 563 - 564. 1994.
62. REVISTA PANAMERICANA DE SALUD PUBLICA. Reevaluación de la prevalencia de la esquistosomiasis en el Brasil. vol.2 n.1 Washington Jul. Pag. 63. 1997.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S1020-49891997000700019>

## **11. BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA**

- ALZERRECA, A. ; BOLIVAR, A.; HART, G. Molluscicidal glycosidic alkaloids on *Lymnaea cubensis* snails. *J. Agric. Univ. P. R.*, **65**: 69-72, 1979
- ARAMBARRI A. M. & S. E. FREIRE, N. D. BAYÓN, M. N. COLARES, C. MONTI, M. C. NOVOA, S. A. STENGLEIN, S. M. MARTINEZ, V. G. PERROTA. Morfoanatomía Foliar de Árboles y Arbustos Medicinales de Misio-

nes (Argentina). Fac. de Ciencias Agrarias y Forestales. Univ. Nac. de La Plata. 2007.

BASE DE DATOS sobre botánica World Agroforestry Centre.

BORDA, C. E. & M. J. F. REA, L. A. MOSQUEDA, O. BENITEZ. Hospederos intermediarios y definitivos de *Schistosoma mansoni*. Resumen: M-127. Comun. Cient. y Tecn. Univ. Nac. del Nordeste 2006.

BUOL, S. W. & F. D. HOLE, R. J. MCCRACKEN. Soil genesis and classification. Iowa State University Press, pp 1-360. 1973.

BUOL, HOLE, & MCCRACKEN. 'Génesis de Suelos y Clasificación.' 4ª edición. Iowa State University Press, Ames. 1997.

BURCH, J.B. *North American freshwater snails*. Michigan, Malacological Publications, 1989

BUSVINE, J. R. A CRITICAL. Review of the Technique for Testing Insecticides. Second edition. London. 1971.

CASSARÁ, M. L. A. Actividad Antifúngica y Molusquicida del Extracto Clorofórmico de *Senecio santelisis*.

<http://www.cori.unicamp.br/jornadas/completos/UNT/PNBA%20Arias.doc>. Se pidió trabajo a la autora por mail el 26 de agosto de 2007.

CASTELLANOS, Z. J. A. de. Los invertebrados, Tomo III: primera parte - moluscos 1a ed. Buenos Aires: Estudio Sigma, 206 págs, 1994.

CASTRO, O.; CABALLERO, R.; SALADRIGAS, C.; LAZO, O.; MILLAN, J.C. In: Congreso Latinoamericano de Medicina Tropical, 5º; Congreso Cubano de Microbiología y Parasitología, 5º; Congreso Cubano de Medicina Tropical, 2º; Congreso 60 Aniversario del Instituto "Pedro Kourí", La Habana, 1997. *Resúmenes*. p.130.

CHASE, M. & D. E. SOLTIS, R. G. OLMSTEAD; D. MORGAN, D. H. LES, B. D. MISHLER, M. R. DUVALL, R. A. PRICE, H. G. HILLS, Y. L. QIU, K. A. KRON, J. H. RETTING, E. CONTI, J. D. PALMER, J. R. MANHART, K. J. SYTSMA, H. J. MICHAELS, W. J. KRESS, K. G. KAROL, W. D. CLARK, M.



HEDREN, B. S. GAUT, R. K. JANSEN, K. J. KIM, C. F. WIMPEE, J. F. SMITH, G. R. FURNIER, S. H. STRAUSS, Q. Y. XIANG, G. M. PLUNKETT, P. S. SOLTIS, S. M. SWENSEN, S. E. WILIAMS, P. A. GADEK, C. J. QUINN, L. E. EGUIARTE, E. GOLENBERG, G. H. LEARN JR., S. W. GRAHAM, S. C. H. BARETT, S. DAYANANDAN, V. A. ALBERT. Phylogenetics of seed plants: An analysis of nucleotide sequences from the plastid gene *rbcL*. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 80: 528-580. . 1993.

CRONQUIST, A. *An integrated system of classification of flowering plants*. Columbia University Press, New York. 1981.

CRONQUIST, A. . *The evolution and classification of flowering plants*. 2da. Ed. New York Botanical Garden, Bronx. 1988.

CRUZ REYES, A., C. CHAVARIN, M. P. CAMPOS ARIAS, J. TABOADA & M. JIMENEZ E. Actividad molusquicida del piquerol aislado de *Piqueria Trinervia* (compositae) sobre ocho especies de caracoles Pulmonados. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, Vol. 84 (1): 35-40, jan./mar. 1989.

DONOGHUE, M. J y J. A. DOYLE. Phylogenetic analysis of angiosperms and the relationships of Hamamelidae. En: *Evolution, systematics, and fossil history of the Hamamelidae*, vol. 1, Introduction and "lower" Hamamelidae. Syst. Assoc. Special Vol. 40A, PR Crane y S Blackmore (editores), 17-45. Clarendon Press, Oxford. 1989.

DOYLE, J. A, M. J DONOGHUE y E. A. ZIMMER. Integration of morphological and ribosomal RNA data on the origin of angiosperms. *Ann Missouri Bot. Gard.* 81: 419-450. 1998.

DOYLE, J. A. Seed plant phylogeny and the relationships of the Gnetales. *Int. J. Plant. Sci.* 157(6) Suppl.: 3-39. 1996.

DOYLE, J. A. Phylogeny of vascular plants. *Annual Rev. Ecol. Syst.* 29: 567-599.

ENK, M. J. & A. AMORIM, V. T. SCHAL. Brote de Esquistosomiasis Aguda en el Área Metropolitana de Belo Horizonte Memorias do Instituto Oswaldo Cruz  
98(6):745-750 Sep. 2003.

CHARLES, H. K. Toward the Elimination of Schistosomiasis. The New England Journal of Medicine Number 2. Vol. 360:106-109. January 8, 2009

FERRER, J. R.; SANCHEZ, R.; PERERA, G.; YONG, M.; SANCHEZ, J. Estudios de la acción molusquicida en el laboratorio del maguey (*Agave legrelliana*), sobre *Biomphalaria havanensis*. *Rev. Cub. Med. Trop.*, **45**:118-21, 1993

FINNEY, D. E. Statistical Methods in Bioassay. Centre of Disease Control. 1936.

GRAHAM, S.W. & R. G. OLMSTEAD. Utility of 17 chloroplast genes for inferring the phylogeny of the basal angiosperms. *Amer. J. Bot.* 87: 1712-1730. 2000.

Guía de Consultas Botánica II. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura (UNNE). Caryophyllidae. Phytolaccaceae, pp 129-130.  
<http://www.biologia.edu.ar/diversidadv/fascIII/1.%20Phytolaccaceae>.

HELAL, Y. F. M. Development of slow release styrene/butadiene rubber formulations containing *Phytolacca dioica* L as source of molluscicidal saponin. Institute of Materials, London, ROYAUME-UNI, vol. 26, n°1, pp. 32-37. 1997.

BULL WORLD HEALTH ORGAN. Informal meeting of investigators on molluscicide screening and evaluation held during 17- 21 November, Geneva. 1965; 33(4): 567-581. 1964.

INSAURRALDE I. & M. E. RODRÍGUEZ. Diversidad Florística del Jardín Botánico Alberto Roth de la Ciudad de Posadas, Misiones. Contribuciones 1-Serie Verde Publicación de la RAJA (Red Argentina de Jardines Botánicos). 2009. 1: 2-21.

JIMÉNEZ, Y. H. Estudios de laboratorio sobre la acción molusquicida de la resina de pino, colofonia, sobre *Biomphalaria havanensis*. *Rev. Cubana Med. Trop.* v.60 n.2 Ciudad de la Habana Mayo-ago. 2008.

KLOOS, A. & F. S. McCULLOUGH. Plants with recognized molluscicidal activity. In: Mott, K.E. *Plant molluscicides*. New York, John Wiley and Sons, cap. 3, p. 45-103. 1983.

KLOOS, H. & McCULLOUGH, F.S. Plant molluscicides: a review. In: WHO. Genova, WHO, 1981. p. 81-9.

LEMMA, A. Laboratory y Fied Evaluati3n of the Molluscicidal Propierties of *Phytolacca dodecandra*. Bull. Org. mond. Sante, 1970, 42, 597-612.

LEYTON V. et AL & T. O. HENDERSON, D. MASCARA, T. KAWANO. Atividade moluscicida de princ3pios ativos de folhas de *Lycopersicon esculentum* (Solanales, Solanaceae) em *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda, Planorbidae). Iheringia, S3r. Zool., Porto Alegre, 95(2):213-216, 30 de junho de 2005.

L3PEZ, J. A. & e. LITTLE, G. RITZ, J. ROMBOLD, W. HAHN. 3rboles communes del Paraguay: 3ñande yvyra mata kuera, Paraguay, Cuerpo de Paz, 425 p3g. 1987.

MAJOROS, G. B., FEH3R, Z., DELI, T.; F3LDV3R, G. "Establishment of *Biomphalaria tenagophila* Snails in Europe". *Emerging Infectious Diseases* 14 (11): 1812–1814. doi:10.3201/eid1411.080479. PMC 2630743. PMID 18976582. (2008).

MALEK, E. & T. CHENG. *Medical and economic malacology*. New York, Academic Press, 1974.

MARCHIORETTA M. S. A Familia Phytolacaceae No Rio Grande do Sul. Pesquisas. 1989. Bot.40.

MARTINELI MENDES, N. Ensaiois preliminares em laborat3rio para verificar a a3o moluscicida de algumas esp3cies da flora brasileira. Rev. Sa3de P3blica vol. 18 no.5 S3o Paulo Oct. 1984. doi: 10.1590/S0034-89101984000500003.

MATHEWS, S. & M. J. DONOGHUE. The root of angiosperm phylogeny inferred from duplicate phytochrome genes. *Science* 286: 947-950. 1999.

MORGAN, J. A. T. & R. J. DEJONG, S. D. SNYDER, G. M. MKOJI, E. S. LOKER. "Schistosoma mansoni and Biomphalaria: Past history and future trends". *Parasitology* 123 (7). (2003). doi:10.1017/S0031182001007703.

PARAENSE, W. L. Self and cross-fertilization in *Australorbis glabratus*. *Mem.Inst. Oswaldo Cruz* 53: 285-291. 1955.

PÉREZ, D. D. & J. IANNAcone O. Mortalidad y repelencia en *Eupalamides cyparissias* (Lepidoptera: Castniidae), plaga de la palma aceitera *Elaeis guineensis*, por efecto de diez extractos botánicos. *Rev. Soc. Entomol. Argent.* v.67 n.1-2 Mendoza ene./jun. 2008

PETRI I. M. & D. J. GALLO, F. M. OLLIER. *Phytolacca* tetrámera Hauman, in situ. *Rev. Colomb. Biotecnol.* Vol. XII N° 2. 259-261. Diciembre 2010.

PIÑA PEREZ M. & L. DIÉGUEZ FERNANDEZ, O. A. ABREU GUIRADO, R. VÁZQUEZ CAPOTE Y G. GONZÁLEZ AGUILAR. Actividad molusquicida del Paraíso (*Melia azedarach* L.) (Meliaceae) sobre *Lymnaea cubensis*, molusco vector de Fasciolosis. *Rev. Saúde Pública* vol. 32 no. 3 São Paulo. June 1998. doi: 10.1590/S0034-89101998000300009.

RAYMOND, M. Presentation d'un programme basic d'analyse log-probit micro-ordinateur. *Cah. Orstom Entomol. Med. Parasitol.*, 23:117-21, 1985.

ROSA, F. M. & D. P. A. MARQUES, E. MACIEL, J. M. COUTO, D. A. NEGRÃO-CORRÊA, H. M. S. TELES, J. B. dos SANTOS, P. M. Z. COELHO. Breeding of *Biomphalaria tenagophila* in mass scale. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 55(1):39-44, January-February, 2013. doi: 10.1590/S0036-46652013000100007.

RUMI, A. & D. E. GUTIÉRREZ GREGORIC, V. NÚÑEZ, G. A. DARRIGRAN. Malacología Latinoamericana. Moluscos de agua dulce de Argentina. *Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol. ISSN-0034-7744)* Vol. 56 (1): 77-111, March 2008.

SALOMÓN, O. D. Moluscos de interés sanitario en la Argentina. 1a ed. Puerto Iguazú: INMeT, 2013. 157 p.

SAVOLAINEN, V. & M. W. CHASE, S. B. HOOT, C. M. MORTON, D. E. SOLTIS, C. BAYER, M.F. FAY, A.Y. DE BRUJIN, S. SULLIVAN, Y-L QIU.

Phylogenetics of flowering plants based upon a combined analysis of plastid *atpB* and *rbcL* gene sequences. *Syst. Biol.* 49: 306-362. 2000.

SOLTIS, D. E. & P. S. SOLTIS, M. W. CHASE, M. E. MORT, D. C. ALBACK, M. ZANIS, V. SAVOLAINEN, W. H. HAHN, S. B. HOOT, M. F. FAY, M. AXTELL, S. M. SWENSEN, L. M. PRIMCE, W. J. KRESS, K. C. NIXON, y J. S. FARRIS. Angiosperm phylogeny inferred from 18S rDNA, *rbcL*, and *atpB* sequences. *Bot. J. Linn. Soc.* 133: 381-461. 2000.

SOUZA, C. P. & N. M. MENDES, L. K. JANNOTTI-PASOS, J. P. PEREIRA. O uso da casca da castanha do caju, *Anacardium occidentale*, como molusquicida alternativo. *Rev. Saúde Pública*, 34:459-66, 1992.

SOUZA, C.P. Molluscicide Control of Snail Vector of Schistosomiasis. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, Vol. 90: 165-168, mar./apr. 1995.

THEODOR, C. H. C. & H. H. HILGER. Angiosperm Phylogeny, Flowering Plant Systematics. 2013.

TORO VEGA, V. A. Evaluación de la Actividad Analgésica Aguda y Crónica de *Phytolacca dioica* Mem. para optar al Título de Químico Farmacéutico. Univ. de Chile, Fac. de Cs. Quím. y Farmacéuticas, Dpto. de Química Farmacológica y Toxicológica. 2009.

WHO. Molusquicidas. Segundo informe del Comité de Expertos en Bilharziasis Serie de Informes Técnicos n° 214, pp. 1-60. 1961.

WHO. Prevention and control of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis. Geneva, 2004. World Health Organization. (WHO/CDS/CPE/PVC/.9).

WHO. Report of the Scientific Working Group on Plant Molluscicides. TDR/SCH – SWG (4)/83.3: 1-11. Ginebra. 1983.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Control de la esquistosomiasis. Genove. World Health Organization: Monograph. Inf. Com. Expet. OMS. Series, N° 728. 1985.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Snail control in the prevention of bilharziasis. Genève. World Health Organization: Monograph. Serie, N° 50. 1965.

Autor: Roberto Enrique Stetson

YOUNGKEN M., Tratado de Farmacognosia. México, D.F., Atlante, 1951. 388-391p.

ZIMMER, E. A. & R. K. HAMBY, M. L. ARNOLD, D. A. LEBLANC, E. C. THERIOT. Ribosomal RNA phylogenies and flowering plant evolution. En: *The hierarchy of life*, B. Fernholm, K. Bremer, y H. Jornvall (editores). 205-214. Elsevier, Amsterdam. 1989.